

**UNTERSUCHUNG UND VERGLEICH
DER PTERIDINMUSTER IM HARN VON HUND UND KATZE
SOWIE DEREN VERÄNDERUNG BEI VERSCHIEDENEN
NEOPLASIEN UND VIRUSINFEKTIONEN**

FRANZ L. GASSNER

Disbui. München

1987

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Arbeit angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. M. Merckenschlager

UNTERSUCHUNG UND VERGLEICH DER PTERIDINMUSTER IM HARN VON HUND
UND KATZE SOWIE DEREN VERÄNDERUNG BEI VERSCHIEDENEN NEOPLASIEN
UND VIRUSINFEKTIONEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
FRANZ L. GASSNER
aus
Eggenfelden

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: _____ Prof. Dr. H. Zucker

Referent: _____ Prof. Dr. M. Merckenschlager

Korreferent: _____ Prof. Dr. W. Kraft

Tag der Promotion: _____ 24. Juli 1987

Herstellung: Hieronymus Buchreproduktions GmbH, München

Meinen Eltern, meiner Oma

und

meiner Monica

INHALTSÜBERSICHT

Seite

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Nomenklatur und Geschichte der Pteridine	3
2.2	Wichtige chemische und physikalische Eigenschaften	6
2.3	Stoffwechsel der Pteridine	7
2.4	Quantifizierung der Pteridine	13
2.5	Rolle der Pteridine in der Natur	14
2.6	Die Bedeutung der Pteridine für Funktionen und Dysfunktionen sowie für Stoffwechselwege und -erkrankungen des Säugerorganismus	15
2.6.1	Mensch	15
2.6.2	Tier	18
2.7	Pteridine in Verbindung mit Neoplasien	20
2.7.1	Die Rolle der Pteridine als Tumormarker in der Humanmedizin	20
2.7.2	Pteridine als diagnostische Parameter bei Tumoren des Tieres	22
2.8	Pteridine in Verbindung mit Virosen	23
2.8.1	Pteridine bei Virusinfektionen und -infektionskrankheiten des Menschen	23
2.8.2	Pteridine bei Virusinfektionen des Tieres, speziell des Hundes und der Katze	24
2.9	Problemstellung	28
3	MATERIAL UND METHODIK	29
3.1	Material	29

3.1.1	Klinisch gesunde Tiere	29
3.1.2	Hunde mit Neoplasien	30
3.1.3	Hunde mit Parvovirose und Parvoviroseverdacht	31
3.1.4	Katzen mit FeLV-Infektion	32
3.1.5	Katzen mit feliner infektiöser Peritonitis	32
3.1.6	Materialgewinnung	32
3.1.7	Materiallagerung	33
3.2	Methodik	34
3.2.1	Aufarbeitung der Urinproben	34
3.2.2	Reversed-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie	35
3.2.3	Creatininbestimmung	37
3.2.4	Statistik	38
4	ERGEBNISSE	39
4.1	Klinisch gesunde Tiere	39
4.2	Hunde mit Neoplasien	44
4.3	Hunde mit Parvovirose und Parvoviroseverdacht	64
4.4	Katzen mit FeLV-Infektion	66
4.5	Katzen mit feliner infektiöser Peritonitis	68
4.6	Pteridine im Überblick	70
5	DISKUSSION	73
5.1	Klinisch gesunde Hunde und Katzen	73
5.2	Pteridine bei den verschiedenen Neoplasien des Hundes	75
5.3	Pteridine bei Virose	84
6	ZUSAMMENFASSUNG	86
	SUMMARY	88
7	LITERATURVERZEICHNIS	90

1 EINLEITUNG

Stoffwechselschritte sind vielfach an den Gehalten ihrer Substrate in extrazellulärer Flüssigkeit, Sekreten und Exkreten zu verfolgen. Abweichungen vom Normalvorkommen signalisieren ihre Aktivierung oder ihr Entgleisen. Auf bestimmte Zellsysteme lokalisierte Stoffwechselabläufe lassen bei Veränderungen auf Vorgänge der Aktivierung und/oder Schädigung des Systems schließen, auch auf Mobilisierungen von Systemen zum Schutze anderer. Derartige Schlüsse sind aber letztlich nur möglich, wenn über Gesamtabläufe und Einzelschritte, damit über den Ursprung und die Bedeutung eines als Indikator faßbaren Produktes, Klarheit besteht. Dieses Ziel zu errechnen muß auch versucht werden, wenn ein Produkt aufgrund von Erfahrungswerten schon als mehr oder weniger sicherer Marker für ein Geschehen benutzt wird.

Bei der intensiven Suche nach Substanzen, die vor allem bei Neoplasien und Virusinfektionen vermehrt im Blut oder Urin auftreten und zum Erkennen von malignem Wachstum, zur Verlaufskontrolle, Rezidivbildung und Metastasierung beitragen, konnte bis heute kein entscheidender Erfolg erzielt werden. Die Serumproteine (carzinoembryonales Antigen, Alpha-Fetoprotein) und Beta-Human-Chorion-Gonadotropin besitzen eine annehmbare Spezifität und Sensivität, doch ist ihre Anwendung auf Tumore weniger Gewebeformen beschränkt und erlauben kein frühzeitiges Erfassen der Diagnose.

Es gibt nun Hinweise dafür, daß Pteridine als Stufen des Purinstoffwechselweges ein neues diagnostisches Hilfsmittel für das Immunsystem betreffende Krankheiten darstellen. Die Humanmedizin befaßt sich im Gegensatz zur Veterinärmedizin schon seit beinahe acht Jahren mit dem Phänomen "Pteridine" als Tumormarker.

Ziel dieser Arbeit war es, durch qualitative und quantitative Bestimmung im Urin von Hund und Katze zu klären, welche Pteridine

und in welchen Mengen beim gesunden Tier vorkommen und ob bei verschiedenen Neoplasien und Virusinfektionen Veränderungen im Pteridinmuster auftreten.

2 LITERATURUEBERSICHT

2.1 Nomenklatur und Geschichte der Pteridine

Das Interesse an den natürlich vorkommenden Pteridinen kann zurückverfolgt werden bis zu Friedrich G. Hopkins und seinen Studien über die Flügelfarbstoffe bei Schmetterlingen (HOPKINS 1889; 1891; 1895a; 1895b). In seiner ersten Publikation beschreibt er die Isolierung eines gelben Farbstoffes aus dem Zitronenfalter. Sechs Jahre später gewann er einen weißen Farbstoff aus dem Kohlweißling (HOPKINS 1895b). In den Jahren 1924 bis 1926 wurden diese Pigmente von Wieland und Schöpf weiter gereinigt (WIELAND und SCHÖPF 1925; SCHÖPF und WIELAND 1926). Sie benannten die Farbstoffe - der griechischen Terminologie gemäß - Xanthopterin und Leukopterin (xanthos und leukos für gelb und weiß, pteron für Flügel).

Etliche Schwierigkeiten, wie geringe Mengen an gereinigtem Material, sowie Unkenntnisse über chemische und physikalische Eigenschaften, trugen zu den Schlüssen der Entdecker bei, daß es sich bei der Struktur der Pterinpigmente um die von Di- und Tripurinen handelt (WIELAND et al., 1933; SCHÖPF und BECKER 1936; WIELAND und PURRMANN, 1939). Erst im Jahre 1940 gelang PURRMANN die Synthese und damit die Strukturaufklärung von Leukopterin und Xanthopterin (PURRMANN, 1940a; PURRMANN, 1940b), 1941 von Isoxanthopterin, eines weiteren Insektenpterins (PURRMANN, 1941).

Diese drei Pigmente enthielten denselben stickstoffhaltigen, heterocyclischen Ring (Pyrimido [4,5-b]-pyrazin). Der Begriff "Pteridin" zur Beschreibung dieser Ringstruktur wurde als erstes von WIELAND geprägt (R. PURRMANN, 1941; SCHÖPF und REICHERT, 1941). Anfänglich benutzte man das Wort "Pterin" zur Charakterisierung der Insektenfarbstoffe allein (WIELAND und SCHÖPF, 1925; SCHÖPF und BECKER, 1936), erst PFLEIDERER schlug vor, den Tri-



vialnamen Pterin - wie heute gebräuchlich - auf alle Derivate des 2-Amino-4-oxopteridins zu beschränken (PFLEIDERER, 1964). Die meisten der natürlich vorkommenden Pteridine sind Pterine, mit Substitutionen an den Positionen 6, 7 oder 8 des Pteridinringes.

Pteridine werden in zwei Gruppen geteilt, die konjugierten und die unkonjugierten Pteridine. Konjugierte Pteridine gehören zur Familie der Folsäure und leiten sich von der Pteroinsäure ab. Unkonjugierte Pterine dagegen enthalten weder einen p-Aminobenzoatsubstituenten noch Glutamatderivate davon. Bei den in dieser Arbeit genannten Pteridinen handelt es sich stets um die unkonjugierten Pteridine, wobei wir unsere Untersuchungen auf Neopterin, Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin beschränkt haben. Sie sind in ausreichender Menge vorhanden und so der Fluoreszenzdetektion zugänglich. Sie haben sowohl in der humanmedizinischen Forschung als diagnostischer Parameter und teilweise (Biopterin) als Therapeutikum Berücksichtigung gefunden als auch bei den wenigen Arbeiten, die sich mit Tieren befassen (Abb. 1):

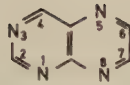
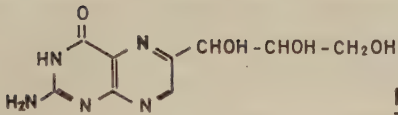
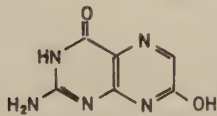
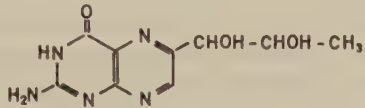
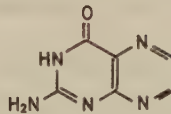
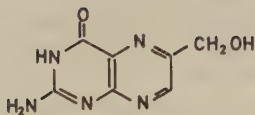
PteridineNeopterinBiopterinIsoxanthopterinPterin6-Hydroxymethylpterin

Abb. 1: Strukturformeln unkonjugierter Pteridine

2.2 Wichtige chemische und physikalische Eigenschaften der Pteridine

In ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften gleichen die Pteridine denen der strukturell ähnlichen Purine. Pteridine sind bekannt für ihre geringe Löslichkeit in Wasser und in den meisten organischen Lösungsmitteln, die aus einer Wasserstoffbrückenbindung der 2-Amino- und 4-Hydroxy-Gruppe zwischen Pterinmolekülen resultiert.

Pteridine kommen in den Organismen höherer Vertebraten in drei verschiedenen Oxidationsstufen vor (Tetrahydro-, Dihydro- und volloxydierte Form). Die Tetrahydroform erscheint dabei am häufigsten.

Pteridine besitzen charakteristische UV-Spektren, wobei die oxidierten aromatischen Pteridin-Derivate intensiv blau bis rot fluoreszieren. Ein Nachweis in Chromatogrammen ist daher mittels Fluoreszenzdetektion selbst in geringsten Konzentrationen möglich.

Pteridine bilden Metallchelate und schwerlösliche Quecksilber- und Silbersalze und tendieren zu Komplexbildungen mit Proteinen, Peptiden und Nukleinsäuren (TSUJITA und SAKURAI, 1963; LAGOWSKI und FORREST, 1967).

Hervorzuheben ist die Photolabilität, die bei Tetra- und Dihydroformen besonders groß ist. Desweiteren neigen Pteridine zu Oberflächenadhäsionen, beispielsweise an Glas.

2.3 Stoffwechsel der Pteridine

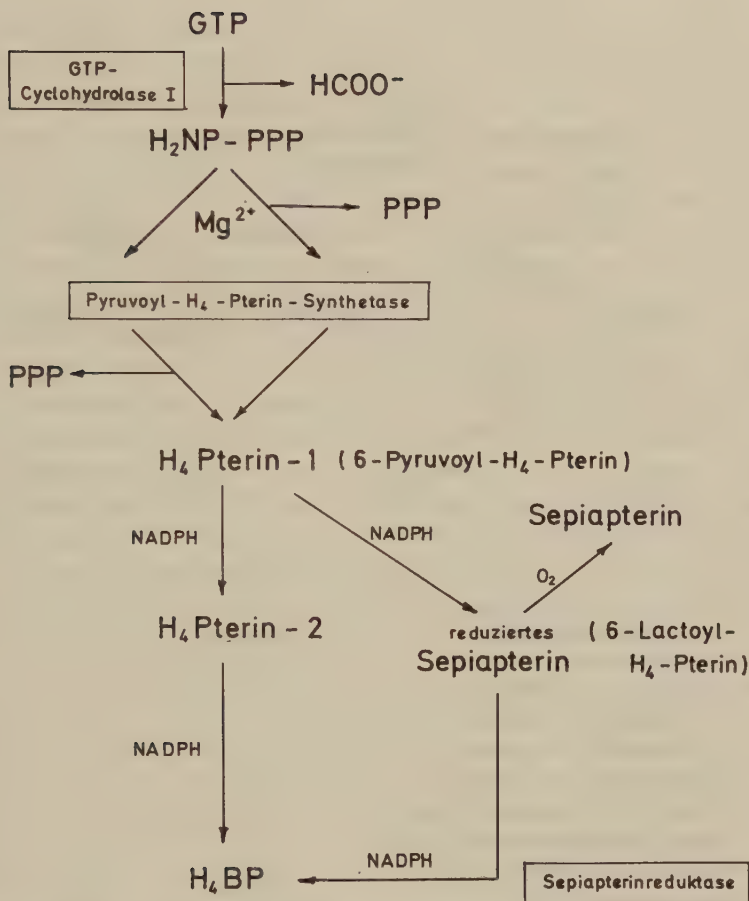
Die ersten Hinweise, daß Purine in Pteridine umgewandelt werden, fand ALBERT (1954). Er zeigte, daß geringe Mengen an Pteridinen nach Inkubation von Purinen bei 37°C mit Dicarbonylverbindungen nachgewiesen werden können. Den direkten Beweis, daß Guanosin den unmittelbaren Precursor der Pteridine darstellt, erbrachte BROWN (1971) durch die Isolierung der Guanosintriphosphat-Cyclohydrolase I (GTP-CH I) aus *E. coli*. Dieses Enzym GTP-CH I wandelt GTP limitierend zu Dihydroneopterintriphosphat (H_2NP -PPP), den Ausgangspunkt des Pteridin- und Folsäurestoffwechsels um (Abb. 2). Unter Anwesenheit von Mg^{2+} werden mittels des phospho-eliminating enzyme (PEE), das gleichbedeutend ist mit Pyruvoyl- H_4 -Pterin-Synthetase, die Phosphatgruppen abgespalten und es entsteht H_4 -Pterin 1 (6-Pyruvoyl- H_4 -Pterin). Nun kommt es durch das dritte Enzym, die Sepiapterinreduktase, entweder über H_4 -Pterin 2 oder über reduziertes Sepiapterin (6-Lactoyl- H_4 -Pterin) unter Mitwirkung von NADPH zur Bildung des Tetrahydrobiopterins (H_4BP) (SMITH et al., 1986). Dieser Weg wird als *de novo* pathway bezeichnet und dominiert unter normalen Stoffwechselbedingungen (MILSTIEN und KAUFMAN, 1986).

Auch über Sepiapterin - entstehend durch Oxidation des reduzierten Sepiapterins - soll eine Umwandlung in Tetrahydrobiopterin oder in die oxidierte Form Biopterin möglich sein (Abb. 3). Dabei entsteht durch Sepiapterinreduktase zunächst Dihydrobiopterin (H_2BP), das dann mittels Dihydrofolatreduktase (DHFR) bzw. Dihydropterinoxidase weiter umgebaut wird. Die Korrektheit dieses Dihydropterinpathways oder salvage pathways wird jedoch in jüngster Zeit von mehreren Autoren in Frage gestellt (SMITH et al., 1986; MILSTIEN und KAUFMAN, 1986).

DUCH et al. (1983) haben bewiesen, daß die Anwesenheit von Methotrexat DHFR und in höheren Dosen auch Dihydropterinreduktase (DHPR) hemmt, der *de novo* pathway jedoch nicht beeinflußt wird.

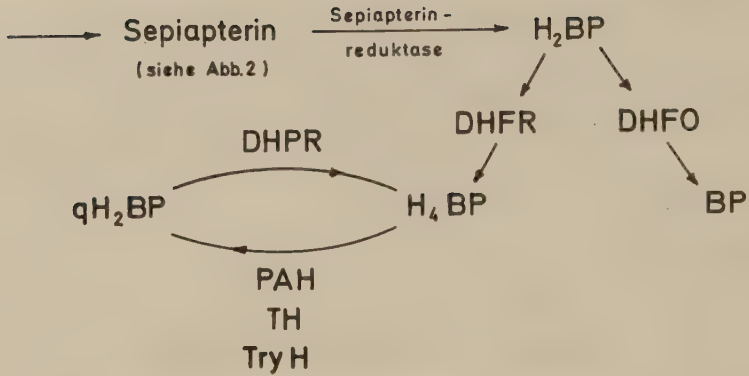
DHPR ist zur Regeneration von Tetrahydrobiopterin aus quinoidem Dihydrobiopterin (q H₂BP) nötig (CRAINE et al., 1972) (Abb. 3).

Der Ursprung von 6-Hydroxymethylpterin ist ebenso nicht endgültig geklärt wie der von Neopterin. Eine in vitro Umwandlung von Folat in 6-Hydroxymethylpterin wurde nur für maligne Zellen beschrieben (STEAL et al., 1978). Neopterin soll aus Dihydroneopterin, das vorher durch eine Phosphatase aus Dihydroneopterin-triphosphat entstanden ist, gebildet werden (Abb. 4).



GTP = Guanosintriphosphat
 H₂NP-PPP = Dihydroneopterintriphosphat
 H₄BP = Tetrahydrobiopterin

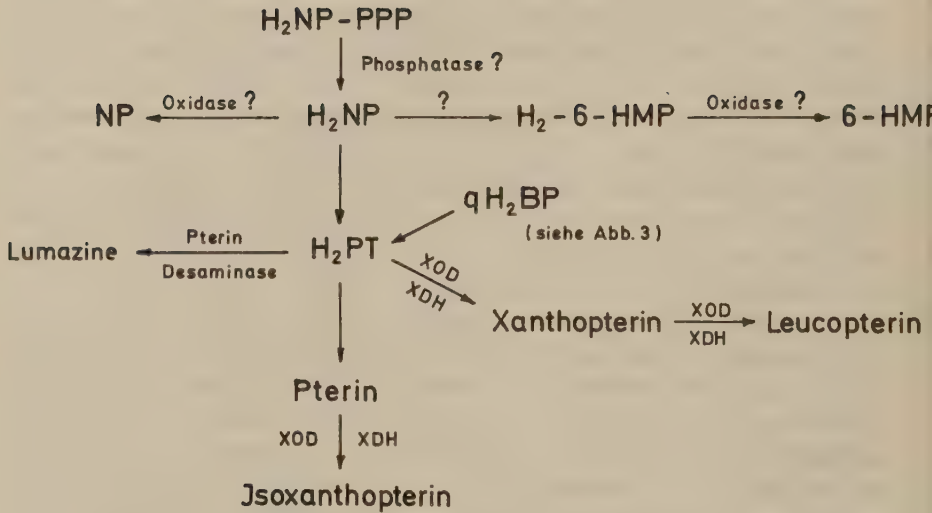
Abb. 2: Ablauf des de novo pathway (nach SMITH et al., 1986)



- H_2BP = Dihydrobiopterin
 H_4BP = Tetrahydrobiopterin
 qH_2BP = quinoides Dihydrobiopterin
 DHFR = Dihydrofolatreduktase
 DHFO = Dihydrofolatoxidase
 DHPR = Dihydropterinreduktase
 PAH = Phenylalaninhydroxylase
 TH = Tyrosinhydroxylase
 TryH = Tryptophanhydroxylase

Abb. 3: Dihydropterin pathway oder salvage pathway (modifiziert nach DUCH et al., 1983)

Etwas mehr Kenntnis als von ihrem Aufbau hat man vom Abbau der Pteridine im Organismus (Abb.4). In Untersuchungen wurde aufgezeigt, daß der Pteridinabbau - abhängig von einer Pterin-Desaminase-Beteiligung - auf der Stufe einfacher Lumazine oder Pteridine, wie Pterin und Isoxanthopterin, endet (REMBOLD et al., 1969a; 1969b; 1971). Pterin und Lumazin sind gleichwertige Substrate für die Xanthinoxidase/Xanthindehydrogenase (XOD/XDH). Nach BATELLI et al. (1972) geht die Xanthinoxidase schon durch geringe Manipulationen in die Xanthindehydrogenase über, d.h. die XDH ist gleichzusetzen mit der XOD. Im weiteren Text sprechen wir nur von der Xanthinoxidase. Lumazin und Pterin werden von der Xanthinoxidase an C-7 hydroxyliert, woraus Isoxanthopterin entsteht (BERGMANN und KWIETNY, 1958; 1959). Wird dagegen bei den 7,8-Dihydroverbindungen an C-6 oxidiert, so wird dabei Xanthopterin gebildet (REMBOLD und GUTENSOHN, 1968). Desweiteren fanden FORREST et al. (1956) bei einer Drosophila-Mutante, der Xanthinoxidase fehlt, nur Pterin als Abbauprodukt, während der Wildstamm Isoxanthopterin enthielt. Auch aus quinoidem Dihydrobiopterin soll über Dihydropterin das Pterin entstehen (EDWARDS, 1987) (Abb. 4).



$\text{H}_2\text{NP-PPP}$ = Dihydroneopterintriphosphat
 H_2-6-HMP = Dihydro-6-hydroxymethylpterin
 qH_2BP = quinoide Dihydrobiopterin
 H_2PT = Dihydropterin
 XOD = Xanthinoxidase
 XDH = Xanthindehydrogenase

Abb. 4: Weitere Stoffwechselwege und Pteridinkatabolismus
(modifiziert nach REMBOLD, 1970)

2.4 Quantifizierung der Pteridine

Die Isolierung, Identifikation und Bestimmung der Pteridine in biologischem Material ist auf mehrfache Weise möglich. Den meisten Techniken geht ein Deproteinisierungsschritt (GYURE, 1972) und eine Lipidbeseitigung voraus (FUKUSHIMA, 1980). Unter anderem kann die quantitative Bestimmung mittels Gaschromatographie in Kombination mit Massenspektrometrie durchgeführt werden (HAUG, 1970). Enzymatische und radiometrische Techniken werden für die Quantifizierung reduzierter Pteridine verwendet (GUROFF et al., 1967). Aus dem Umstand, daß der Trypanosoma-Parasit *Crithidia fasciculata* Biopterin zum Wachstum braucht, wurde ein mikrobiologisches Bestimmungsverfahren für Biopterin entwickelt (DEWEY und KIDDER, 1971). Die Bildung von Antikörpern gegen Neopterin ist Grundlage für den Radioimmunoassay-Test (ROKOS und ROKOS, 1983). Weitere, vor allem früher verwendete Möglichkeiten zur Bestimmung von natürlich vorkommenden Pteridinen sind Papierchromatographie, ein- und zweidimensionale Dünnschichtchromatographie, Ionenaustauscherchromatographie und Elektrophorese (GOTO et al., 1965; WATSON et al., 1978). Wegen ihrer hohen Empfindlichkeit (bis in den Pikogrammbereich), aber auch wegen der schnellen Durchführbarkeit, Reproduzierbarkeit und der akzeptablen Kosten wurde die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) in den letzten Jahren zur Methode der Wahl. (BAILEY und AYLING, 1975; FUKUSHIMA und NIXON, 1980; STEA et al., 1980).

2.5 Rolle der Pteridine in der Natur

Das natürliche Vorkommen von Biopterin und anderen unkonjugierten Pteridinen konnte in einer Reihe von Tierfamilien nachgewiesen werden. Von den Mikroorganismen wie *E. coli* (REMBOLD und HEINZ, 1971) oder *Pseudomonas* (VISCANTINI und BÜHLER-MOOR, 1968) beginnend, über Insekten (u. a. Schmetterlinge (HOPKINS, 1889; 1891; 1895a; 1895b), Fliegen (LEDERER, 1940), Bienen (DUSTMANN, 1971), Ameisen (SCHMIDT et al., 1980) und Grashüpfer (BERTHOLD und BÜCKMANN, 1976)), Weichtieren (MOMZIKOFF, 1973), Amphibien (BLAKLEY et al., 1969), Fischen (MORI et al., 1960), Reptilien (ORTIZ et al., 1962), ja sogar in Chloroplasten (MAKAROV und STAKHOV, 1972) und höheren Pflanzen (YOSHIDA und AKINO, 1980) (Elektronenakzeptor in der Photosynthese? (FULLER und NUGENT, 1969)) wurden die verschiedensten Pteridine in verschiedensten Mengen gefunden. So zeigen beispielsweise Insekten im Verlauf des Puppenstadiums erhebliche Veränderungen in der Konzentration und in der Zusammensetzung der Pteridinmetabolite, deren Funktion aber noch nicht geklärt ist (ZIEGLER, 1965). Weiter fand man, daß sich die Tetrahydrobiopterinkonzentration in den Regenerationsknospen niederer Vertebraten anreichert und mit der Redifferenzierung wieder verschwindet (KOKOLIS und ZIEGLER, 1968). Schon 1960 konnten ZIEGLER et al. in den Augen und in der Haut von Amphibien und in Insektenaugen neben Biopterin eine sehr lichtempfindliche Substanz, das Tetrahydrobiopterin, nachweisen. Neuere Funde lassen eine Schutzfunktion der Pteridine gegen die Sonneneinwirkung auf das Auge annehmen (RAO und COTLIER, 1985).

Die Isolierungen von Xanthopterin und Biopterin aus menschlichem Urin (PATTERSON et al., 1955; FUKUSHIMA und SHIOTA, 1972) waren erste Anzeichen dafür, daß unkonjugierte Pteridine im Säugtiermetabolismus eine Rolle spielen. Die Forschung konzentrierte sich nunmehr auf den Menschen und Tiermodelle, die eine Übertragung auf den Menschen erlauben.

2.6 Die Bedeutung der Pteridine für Funktionen und Dysfunktionen, sowie für Stoffwechselwege und -erkrankungen des Säugerorganismus

2.6.1 Mensch

Neopterin, Biopterin und GTP-Cyclohydrolase I sind in beinahe allen menschlichen Geweben und Organen nachweisbar (DUCH et al., 1984), im menschlichen Serum, in der Cerebrospinalflüssigkeit und im Urin noch viele weitere Pteridine. Dabei betragen die Pteridinspiegel im Urin das 300 bis 1000-fache der Serumwerte, bei gleichen Konzentrationsverhältnissen untereinander. Das mit Abstand am häufigsten und genauesten erforschte Pteridin, das Neopterin, ist bei Kindern im Vergleich zu Erwachsenen in höheren Werten gemessen worden (HAUSEN et al., 1982). Es gibt bei Erwachsenen zwischen den Altersgruppen nur geringe Unterschiede. Der Neopterinspiegel beim Mann liegt höher als bei der Frau (STEAT et al., 1980). Die festgestellten diurnalen Unterschiede in der Pteridinexkretion beim Menschen bestanden für Neopterin in höheren Werten des Nachts und vormittags, für Biopterin am Tage (PHEASANT, 1986).

Doch der Ausgangspunkt für die Pteridinforschung beim Menschen in neuer Zeit war nicht der gesunde, sondern der kranke Organismus. Mit der Erkenntnis von KAUFMAN im Jahre 1963, daß Tetrahydrobiopterin ein Cofaktor der Phenylalaninhydroxylase bei der Umwandlung von Phenylalanin zu Tyrosin ist, war die erste Stoffwechselfunktion der hydrierten Pteridine für den Menschen gefunden. Nachfolgende Untersuchungen zeigten, daß neben den Aktivitäten der Phenylalaninhydroxylase zwei weitere aromatische Aminosäurenhydroxylasen, nämlich Tyrosin- und Tryptophanhydroxylase limitierend mit der zellulären Konzentration von Tetrahydrobiopterin verbunden sind. Die Enzyme spielen in der Biosynthese der Katecholamine (Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin) und Indolamine (Serotonin und Melatonin) eine essentielle Rolle

(NAGATSU et al., 1964; LOVENBERG et al., 1967). Stoffwechseldefekte, die sich auf die Katecholaminsynthese beziehen, wie die atypische Phenylketonurie, sind mit einer erhöhten Neopterin- und Biopterinexkretion verbunden und sind durch Gabe von Tetrahydrobiopterin therapeutisch zu erfassen (KAUFMAN et al., 1975; NIEDERWIESER et al., 1979). Aufgrund dieser Cofaktorfunktion in der Neurotransmittersynthese wurde auch bei anderen Krankheiten, die auf ein Dopamindefizit beruhen und motorische Dysfunktionen hervorrufen, wie Parkinsonismus, eine Behandlung mit Tetrahydrobiopterin versucht (CURTIUS et al., 1982).

TIETZ et al. (1964) und PFLEGER et al. (1967) entdeckten eine weitere Cofaktorrolle des Tetrahydrobiopterins, nämlich bei der Spaltung von Glyceryläthern zu Fettsäuren und Fettalkoholen.

Mit der Erforschung des Pteridinmetabolismus', wachsender Sensibilität der Meßtechniken und somit der Quantifizierung wurden mehr und mehr Zusammenhänge und Funktionen der Pteridine und daraus gekoppelter Enzyme bekannt. So ist die Aktivität der Sepiapterinreduktase und der Dihydropterinreduktase in fetalem und neoplastischem Gewebe erhöht (SANCHEZ-URRETIA et al., 1978). Molybdopterin wurde in einer Vielzahl von molybdänhaltigen Enzymen, wie Xanthinoxidase, Nitratreduktase, Sulfitoxidase, Formatehydrogenase und Aldehydoxidase gefunden (NICHOL et al., 1985).

Bei Tumoren (siehe 2.7), Virusinfektionen (siehe 2.8), ulzeröser Kolitis (ROKOS et al., 1983; PRIOR et al., 1984), Morbus Crohn (ROKOS et al., 1983), primär chronischer Polyarthrit (HAUSEN et al., 1983) und anderen möglichen Autoimmunerkrankungen (ZIEGLER und ROKOS, 1986) wurden im Blut und im Urin erhöhte Pteridinwerte (vornehmlich Neopterin) gemessen.

Dies gilt auch für bakterielle und parasitäre Infektionen mit intrazellulärer Vermehrung des Erregers (Tuberkulose (FUCHS et al., 1983), Lepra (SCHMUTZHARD et al., 1984a), Malaria (SCHMUTZHARD et al., 1984b), bei denen ebenfalls ein Bezug zur

zellulären Immunantwort besteht.

Vor Nierentransplantat- (FUCHS et al., 1982) und Knochenmarkstransplantatabstoßungen (NIEDERWIESER et al., 1984) findet man stets ein bis zwei Tage vor einer klinischen Diagnose eine erhöhte Neopterinexkretion, so daß sich die Neopterinbestimmung sehr gut zur Früherfassung von immunologischen Abstoßungsreaktionen eignet. Eine immunsuppressive Therapie verursacht ein Absinken des Neopterinwertes (HUBER et al., 1983; ZIEGLER und ROKOS, 1986).

Alle diese Forschungsergebnisse führten zu der Vermutung, daß Pteridine im Verlauf der Immunproliferation gebildet werden. Diese Hypothese wurde durch die Neopterinfreisetzung in allo-antigen-aktivierten Lymphozyten (FUCHS et al., 1982), durch erhöhte lymphozytäre Blutspiegel während graft versus host diseases (NIEDERWIESER et al., 1984), sowie durch in vitro Versuche bei lektin-stimulierten Lymphozyten bestätigt (ZIEGLER et al., 1983).

Mit dem heutigen Kenntnisstand teilt man die T-Zellen-Stimulation durch Antigene oder Lektine in zwei Stadien: während der ersten Phase sind Antigene und auch Helferzellen normalerweise erforderlich, um die T-Zellen vom Ruhestadium in das G1-Stadium überzuführen. Diese Phase ist charakterisiert durch Interleukin-2-Rezeptorexpression und Interleukin-2-Produktion (KLAUS und HAWRYLOWICZ, 1984), eines Lymphokins, das auch als Zellwachstumsfaktor bekannt ist (FARRAR et al., 1982). Man nimmt an, daß Interleukin-2 das Signal für das zweite Stadium liefert, das die DNA-Synthese in den aktivierten T-Zellen induziert. Das Lymphokin bemüht sich mittels spezifischer Zelloberflächenrezeptoren um wachsende Zellaktivität (ROBB, 1984). Die Pteridine nehmen teil in der Kaskade der regulatorischen Begebenheiten, die während beider Stadien der T-Zellen-Aktivierung vorkommen (ZIEGLER und ROKOS, 1986).

Als Quelle für Neopterin wurden Makrophagen identifiziert. Es wird aus diesen Zellen durch einen von den aktivierten T-Zellen

abstammenden Faktor, das Interferon-Gamma, freigesetzt (HUBER et al., 1984). Das Interferon-Gamma ist befähigt, die Enzymaktivität von GTP-CH I zu steigern, wodurch es zu einer intrazellulären Anhäufung mit anschließender Freigabe des Neopterin kommt (TROPP-MAIR et al., 1985). ZIEGLER et al. (1983) stellten schon früher fest, daß Tetrahydrobiopterin die Aktivität von Interleukin-2 moduliert, also bei der Regulation der letztgenannten Vorgänge eine Rolle spielt. Eine Anhäufung von Biopterin, 6-Formyl-Pterin und 6-Hydroxymethylpterin folgte zu Beginn einer Lektinstimulation von Mäusemilz-Lymphozyten (ZIEGLER, in press). Ein Anstieg von Biopterin wurde in den immunproliferativen Zellen selbst gezeigt, beispielsweise bei graft versus host-Reaktionen (FINK et al., 1983). Durch die Zugabe von Tetrahydrobiopterin, Dihydrobiopterin oder Sepiapterin lassen sich positive Effekte auf die Concanavalin-A-Stimulierung von Mäuselymphozyten zeigen, die Pteridinkatabolite Xanthopterin und Isoxanthopterin hemmen dagegen ihre Proliferation (ZIEGLER et al., 1983).

2.6.2 Tier

Die Bedeutung der Pteridine für das Tier und somit das Interesse der Pteridinforschung für die Veterinärmedizin blieb lange im Schatten der Humanmedizin.

Beginnend mit Modellreihen zur Aufdeckung von Funktionen (KOKO-LIS und ZIEGLER, 1970) und Biosynthese (FUKUSHIMA et al., 1975) befaßte man sich zuerst mit Labortieren und bestimmte Biopterin von allen Organen, im Gehirn sogar von jeder einzelnen Region (FUKUSHIMA und NIXON, 1980). Erst ZIEGLER et al. (1982b) beschäftigten sich mit Biopterin in Blutzellen während autologer Knochenmarkstransplantationen bei Beagle-Hunden und stellte eine Markerfunktion für die hämatopoetische Zellproliferation fest. DUCH et al. (1984) publizierten einige Kontrollwerte - Neopterin und Biopterin im Urin und in verschiedenen Geweben - bei Beagle-

Hunden, Affen und kleinen Labortieren. Dabei war im Urin von Mäusen, Ratten und Meerschweinchen Neopterin nicht nachweisbar, die Neopterinwerte des Hundes waren im Vergleich zum Menschen sehr niedrig. ROKOS et al. (1985) ergänzten die Arbeit von DUCH mit Serum-Neopterinwerten bei Pferden, Schafen und Kaninchen.

2.7 Pteridine in Verbindung mit Neoplasien

2.7.1 Die Rolle der Pteridine als Tumormarker in der Humanmedizin

Den zweifelsohne momentan herausragenden Stellenwert in der humanmedizinischen Pteridinforschung nimmt das Neopterin ein. Es wurde seit 1979 (WACHTER et al., 1979b) als neuer immunologischer Parameter für maligne Tumore des Urogenitaltrakts (FUCHS et al., 1984; AULITZKY et al., 1984; FRICK et al., 1985), bei gynäkologischen Tumoren (BICHLER et al., 1982; FUCHS et al., 1984) und als Marker für die Proliferation von hämatopoetischen Zellen, sprich für hämatologische Neoplasien (HAUSEN et al., 1981; GRÜNE-WALD et al., 1982), postuliert. Auch bei Kindern mit malignen Neoplasien waren die Neopterinwerte signifikant höher als bei gesunden gleichaltrigen (KOSTRON-KRAINZ et al., 1982; SHIUTAKU et al., 1985).

Ähnliche Ergebnisse bei Tumorpatienten eruierten ROKOS und STEA. Sie fanden, wobei sie sich nicht nur auf das Neopterin konzentrierten, daß die Pteridine sich unterschiedlich verändern. ROKOS et al. (1980) stellten bei 70% der Tumorpatienten erhöhtes Neopterin fest, bei 22% erhöhtes Biopterin, die Neopterin/ Biopterin-Ratio war gegenüber Kontrollwerten stets angestiegen. Pterin war niedriger als bei Kontrollen, während 6-Hydroxymethylpterin und Isoxanthopterin kaum Veränderungen aufwiesen. STEA et al. (1981) dagegen fanden neben Xanthopterin und Neopterin auch das Pterin erhöht, Isoxanthopterin war gesunken, während Biopterin und wiederum 6-Hydroxymethylpterin unverändert gegenüber Kontrollwerten blieben.

Nach ZIEGLER et al. (1982a und 1982b) kommt es bei normaler wie auch bei maligner hämatopoetischer Zellproliferation zu einer Biopterinakkumulation.

Bei den Tumorpatienten stellt man eine Korrelation der Neopterinausscheidung mit dem Fortschreiten der Erkrankung fest, so daß über eine mögliche Verwertbarkeit in der Verlaufskontrolle und somit exaktes staging und optimale Therapieauswahl diskutiert wird (FUCHS et al., 1984a; AULITZKY et al., 1984). Eine Aussage über Rezidivierung ließe sich auch treffen (FUCHS et al., 1984c), da bei gutem postoperativem Verlauf eine Normalisierung eintritt. Bei Hodentumoren wurde eine gute Korrelation mit anderen Tumormarkern festgestellt (FRICK et al., 1985).

Andere Untersuchungen bei Krebspatienten erbrachten gestiegenen Gehalt an Pterin-6-Aldehyd und 6-Hydroxylmazin (HALPERN et al., 1977; RAO et al., 1981; TREHAN et al., 1982).

Doch auch in der Schwangerschaft und im frühen Puerperium wurden erhöhte Neopterinwerte festgestellt, während bei präkanzerogenen Stadien und benignen Tumoren keine verstärkte Neopterinausscheidung zu finden war (BICHLER et al., 1982).

Die Bedeutung der Pteridine während der Immunproliferation, die bei der körpereigenen Tumorbekämpfung eine immense Rolle spielt, wurde bereits in 2.6.1 ausführlich erläutert.

Auch nach der Vorstellung von WACHTER und seiner Forschungsgruppe (WACHTER et al., 1982) könnten die Pteridine mit Proliferationsprozessen in Beziehung stehen. 1982 stellte er eine interessante These auf, die besagt, daß der Einfluß der Pteridine auf die Entwicklung in der Maskierung von m-RNA-Abschnitten beruhen könnte. Eine Bildung von Wasserstoffbindungen zwischen Pteridinen und den Basen der Nukleotiden ist möglich. Solch maskierte m-RNAs könnten an den Ribosomen nicht in Proteine umgesetzt werden.

Die selbe Forschergruppe (HAUSEN et al., 1985) versuchte die unterschiedlich erhöhten Neopterinwerte bei den verschiedenen Tumoren zu erklären. Es wurde auch die Frage gestellt, ob GTP an

sich (WACHTER et al., 1980), erhöhte CTP-Synthetase-Aktivität (WILLIAMS et al., 1978) oder unterschiedliche GTP-Konzentrationen bei verschiedenen Neoplasien (KRAML et al., 1976) eine Rolle spielen.

Nach einer anfänglichen Überbewertung kommt man heute zu dem Schluß, daß Neopterin zwar kein spezifischer Tumormarker, jedoch spezifisch für die Aktivierungszustände des T-Lymphozyten-Makrophagensystems ist (CONRAD et al., 1984).

2.7.2 Pteridine als unterstützender Parameter bei Tumoren des Tieres

Schon Jahre vor der Verwendung der Pteridine als humanmedizinische Tumormarker berichteten KOKOLIS und ZIEGLER (1977) von erhöhtem Tetrahydrobiopterin im Blut tumortragender Ratten. WACHTER et al. (1979a) beschrieb einen angestiegenen Hydroxylumazinpegel bei Mäusen mit Ehrlich-Ascites-Tumor, was ihn erst zum Einstieg in die Humanmedizin inspirierte.

Seither sind keine weiteren Veröffentlichungen über Pteridine bei Neoplasien des Tieres erschienen.

2.8 Pteridine in Verbindung mit Virosen

2.8.1 Pteridine bei Virusinfektionen und -infektionskrankheiten des Menschen

Zugleich mit verschiedenen Tumoren untersuchten WACHTER et al. (1979b) auch Patienten mit Virusinfektionen wie Mumps, Influenza, Röteln und Varicellen. Die ermittelten Neopterinwerte waren gegenüber Kontrollen erheblich stärker erhöht als bei malignen Tumoren.

ZIEGLER beschreibt das gleiche Phänomen 1986 bei Infektionen mit Epstein-Barr-Virus, Cytomegalie-Virus, Hepatitis-B-Virus, HTLV-III-Virus und bei der einfachen Erkältung (ROKOS et al., 1980), wobei der erhöhte Neopterinwert kein diagnostisches Hilfsmittel darstellt. Bei der Immunschwächekrankheit AIDS kann beispielsweise Neopterin als Marker für die Paralyse des Immunsystems verwendet bzw. eine Neopterinwertbestimmung zum Screening von Blutspendern herangezogen werden (FUCHS et al., 1984b). ZEITLER und ANDONDONSKAJA-RENN (1985) bestimmten bei diesem Retrovirus neun verschiedene Pteridine im Plasma, in den korpuskulären Kompartimenten und im Urin. Im Urin waren der Neopterinspiegel fast um das zehnfache angestiegen, während Biopterin im Vergleich zu Kontrollwerten deutlich gesunken war.

2.8.2 Pteridine bei Virusinfektionen des Tieres, speziell des Hundes und der Katze

Als Einzige interessierten sich ROKOS et al. (1985) für Virusinfektionen beim Tier. So fand man bei Frettchen, die durch Influenza-Virus erkrankt waren, und bei Schafen, deren Immunsystem durch T_3 und TSH-Antiserum stimuliert wurde, einen unterschiedlich stark erhöhten Neopterin Spiegel.

Aus diesem Bericht geht nicht hervor, ob Virusinfektionen per se oder damit verbundene klinische Erscheinungen (Fieber, Erbrechen usw.) für Änderungen des Pteridinspiegels verantwortlich zu machen sind.

Für diese Arbeit wurden als Beispiele für Virosen - ausgehend von einer möglichen Probensammlung mit ausreichender Fallzahl - die Parvovirusinfektion des Hundes und zwei Virusinfektionen der Katze (Leukose, feline infektiöse Peritonitis) ausgewählt.

Canine Parvovirusinfektion

Bei der "Katzenseuche" des Hundes handelt es sich um eine durch das sehr widerstandsfähige canine Parvovirus hervorgerufene Infektionskrankheit mit akuter Myokarditis (Welpen unter 3 Monaten) oder Enteritis (ältere Tiere).

Das erst seit 1979/80 in Deutschland auftretende Virus wird mit dem Kot ausgeschieden, peroral aufgenommen und vermehrt sich altersabhängig im Herz oder Darm. Dabei werden im Darm die Zellen der Lieberkühnschen Krypten zerstört, harmlose Darmkommensalen vermehren sich stark und durch die geschädigte Darmwand können Bakterien und Toxine in den Kreislauf gelangen. Schwere Durchfälle und Erbrechen führen zu einem Verlust an Flüssigkeit und

Elektrolyten (wie z.B. Kalium und Bikarbonat) mit lebensbedrohlicher Dehydration, Hypokaliämie und Acidose. Prädisponierende Faktoren spielen anscheinend eine nicht zu unterschätzende Rolle.

Die bei Welpen unter 3 Monaten auftretende Myokarditis verläuft perakut und führt in kurzer Zeit zum Tod durch akutes Herzversagen und Lungenödem.

Ältere Hunde zeigen reduziertes Allgemeinbefinden, z.T. Fieber, starkes Erbrechen und heftige, flüssige Durchfälle, die bald blutig werden. Wenn diese schweren hämorrhagischen Enteritiden gestoppt werden können und die Dehydration nicht zu weit fortgeschritten ist, erholen sich die Patienten meist rasch und daher ist die Prognose eher günstig. Die Mortalität beträgt ca. 4%. Am lebenden Hund erfolgt der Erregernachweis im Kot.

Leukose der Katzen

Der Katzenleukämiekomplex ist eine Infektionskrankheit, hervorgerufen durch das feline Leukosevirus (FeLV) und das feline Sarkomvirus (vermutlich Mutante des FeLV). Das zu den Oncornaviridae der Familie Retroviridae gehörende onkogene RNA-Virus ist somit in der gleichen Virusfamilie wie das menschliche AIDS-Virus HIV I. Dabei handelt es sich um systemische Hämoblastosen (Geschwulsterkrankungen des lymphatischen oder blutbildenden Gewebes) mit oder ohne Veränderung des peripheren Blutes.

Nach Übertragung durch Kontakt (perorale Aufnahme) oder Bluttransfusion kommt es zu einer vorübergehenden oder auch persistierenden Virämie. Es erfolgt die Infektion über das ortständige lymphoretikuläre Gewebe, die zirkulierenden Lymphozyten und Monozyten zu den Keimzentren im ganzen Körper und Stammzellen, Granulozyten und Thrombozyten bis zu den Kryptenepithelien im Darm. Dann kommt es zu einer zweiten Virämie, die sich über

sämtliche Schleimhäute und Drüsenepithelien erstreckt.

Auf die FeLV-Infektion kann der Organismus mit Neoplasien, aber auch mit Anämie, Thymusatrophie, Thrombozytopenie, Immunkomplex- Glomerulonephritis und Fruchtbarkeitsstörungen sowie Sekundärinfektionen nach Immunsuppression (FIP, Panleukopenie, Katzenschnupfen) reagieren. Es kommt durch die Infektion mit FeLV (und FeSV) zur Bildung von Antikörpern gegen FOCMA (Feline Oncornavirus Cell Membrane associated Antigen) und damit - bei entsprechend hohem Titer - zu keiner Tumorbildung. Bei einer persistierenden Infektion mit unvollständiger Immunantwort kommt es bei 3/4 aller Fälle innerhalb von 5 Jahren zur klinischen Erkrankung.

Der Nachweis einer floriden Infektion erfolgt mittels Blutausschich (Fluoreszenz) oder ELISA-Test, eine abgelaufenen Infektion kann ebenfalls durch den Nachweis von Antikörpern gegen FeLV und FOCMA (ELISA-Test oder Vital-Inkubation).

Feline infektiöse Peritonitis

Bei der feline infektiösen Peritonitis handelt es sich um eine durch ein felines Coronavirus hervorgerufene, meist chronische, unheilbare und fieberhafte Infektionskrankheit mit Befall zahlreicher Organe oder seröser Häute. Der Infektionsweg ist größtenteils noch ungeklärt.

Vermutlich abhängig von der Antikörperbildung kann man zwei Verlaufsformen unterscheiden: eine "nasse" exsudative Form mit Ergüssen in die Körperhöhlen und eine "trockene" mit chronischer granulomatöser Entzündung zahlreicher oder einzelner Organe. Bei klinisch manifester Erkrankung findet man hohe, bei inapparenter Infektion niedrige Antikörpertiter (virusinduzierte Immunsuppression?).

Nach unterschiedlich langer Inkubationszeit kommt es zum schleichenden Ausbruch der Krankheit mit Gewichtsverlust, stumpfem Haarkleid, herabgesetztem Hautturgor und Fieber. Typisch ist eine zunehmende Umfangsvermehrung des Abdomens, der ein Erguß mit bernsteinfarbenem, viskösem, hochgradig eiweißreichem, Rivalta-positivem, relativ zellarmen Exsudat mit hohem spezifischem Gewicht zugrunde liegt. Ähnliche Ergüsse können auch in der Brusthöhle gefunden werden. Neben der Leber können auch noch Milz, Pankreas, Nieren, Gehirn und innere Organe der Augen erkranken. Entsprechend kommt es zur chronischen Hepatitis mit schwerem Ikterus und Hepatoenzephalopathie, Verdauungsstörungen, Urämie, Atembeschwerden, ZNS-Störungen und Einschränkung der Sehfähigkeit. Bei der "trockenen" granulomatösen Krankheitsform fehlen die Ergüsse weitgehend, so daß die Organveränderungen und deren Symptome im Vordergrund stehen.

Der Erregernachweis ist problematisch. Hohe Antikörpertiter sprechen für das Vorliegen von FIP.

Während die Parvovirose und in jüngster Zeit auch die Katzenleukose durch neue Impfstoffe "entschärft" werden können, ist bei der feline infektiösen Peritonitis weder spezifische Prophylaxe noch erfolgversprechende Therapie möglich. Eine gewisse Art der Vorbeugung könnte aber die Leukose-Impfung darstellen, wenn die häufig beschriebene Korrelation FIP - Leukose sich wirklich behauptet.

2.9 Problemstellung

Ziel dieser Arbeit ist es nun, erstmals ein sogenanntes Pteridindmuster bei gesunden Hunden und Katzen zu erstellen, d.h. außer den "Standardpteridinen" Neopterin und Biopterin die ebenfalls in ausreichender Menge vorhandenen und somit über Fluoreszenzdetektion meßbaren Pteridine 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin zu messen.

Um eine Normalität zu beurteilen, ist es angebracht, Abweichungen von der Norm als Folge bestimmter Erkrankungen zu erfassen. Dabei bietet es sich auch an, zu prüfen, ob sich die in der Humanmedizin vor allem für die das zelluläre Immunsystem betreffenden Krankheiten verwendete Parameterfunktion der Pteridine auf die Tiermedizin übernehmen läßt. Zur Beantwortung dieser Fragestellung erschienen die Neoplasiepatienten der Kliniken der Tierärztlichen Fakultät und die in der Praxis nicht selten auftretenden Infektionskrankheiten wie die Parvovirose des Hundes, die Katzenleukose und die feline infektiöse Peritonitis besonders geeignet.

3 MATERIAL und METHODIK

3.1 Material

3.1.1 Klinisch gesunde Tiere

Die hier aufgeführten Hunde und Katzen (Vergleichstiere) standen im Zusammenhang mit Experimenten bzw. Operationen unter tierärztlicher Kontrolle und waren augenscheinlich klinisch gesund.

Hunde

Als Vergleichstiere dienten 28 Hunde, die größtenteils aus der Experimentellen Chirurgie des Klinikums Rechts der Isar, München, stammten. Es handelte sich dabei um 15 Tiere männlichen und 13 Tiere weiblichen Geschlechts, verschiedener Rasse, Größe und verschiedenen Alters.

Ebenfalls zu den Vergleichstieren gehörten sechs Hunde der Chirurgischen Tierklinik der Tierärztlichen Fakultät München, die dort zu nicht-Neoplasie bedingten Operationen eingeliefert wurden.

Katzen

Die 21 Vergleichskatzen stammten aus der Gynäkologischen Tierklinik und aus der I. Medizinischen Klinik der Tierärztlichen Fakultät München. Dabei konnten wir auf 7 Kater und 14 Katzen unterschiedlichen Alters zurückgreifen, die vorwiegend der Rasse der Europäischen Hauskatze angehörten.

Bei den unter den Punkten 3.1.2 bis 3.1.5 angeführten Hunden und Katzen sind Rasse, Größe und Alter, sowie etwaige medikamentelle Vorbehandlung nicht berücksichtigt.

3.1.2 Hunde mit Neoplasien

Nachfolgende Hunde mit Neoplasien wurden im Laufe des Jahres 1986 in der Chirurgischen Tierklinik untersucht. Die Einteilung erfolgte nach der Pteridinbestimmung aufgrund des pathologisch-histologischen Gutachtens des Tierpathologischen Instituts der Universität München:

- a) 21 Hunde mit Mammatumoren, davon 15 mit wenig malignem Mischtyp, 4 Adenokarzinome, ein Fibromyxosarkom und ein Fibrosarkom
- b) 14 Hunde mit Perianaldrüsentumoren (12 ♂, 2 ♀), davon 12 mit benignem Adenom, ein Adenokarzinom und ein Fibrosarkom
- c) 9 Hunde mit Hodentumoren, davon 7 Leydigische Zwischenzell-tumore, ein Sertolizell-Tumor und ein Seminom
- d) 8 Hunde mit Lipomen (6 ♂, 2 ♀)
- e) 8 Hunde mit gutartigen Hauttumoren (6 ♂, 2 ♀), davon zwei Histiozytome, ein Trichoepitheliom, ein zystisches Epitheliom, ein Talgdrüsenadenom und drei histologisch nicht definierte Tumore
- f) 6 Hunde mit Knochen- bzw. Knorpeltumoren (4 ♂, 2 ♀), davon 5 Osteosarkome und ein Myxochondrosarkom
- g) 5 Hunde mit Mastzelltumoren (2 ♂, 3 ♀)

- h) 5 Hunde mit Sarkomen (5 ♂), davon drei Fibrosarkome der Haut, ein Liposarkom und ein Rhabdomyosarkom
- i) 5 Hunde mit Augentumoren (5 ♂), davon drei malignen und zwei benignen Typs
- j) 4 Hunde mit Adenokarzinomen (3 ♂, 1 ♀) verschiedener Lokalisation und 4 Hunde mit Karzinomen (2 ♂, 2 ♀), nämlich ein Blasenkarzinom, ein Nierenkarzinom, ein Nebennierenkarzinom und ein Bronchialkarzinom
- k) 3 Hunde mit malignen Melanomen (2 ♂, 1 ♀)
- l) 3 Hunde mit Hämangioendotheliomen (1 ♂, 2 ♀) und ein Hund (♂) mit einem Hämangiom
- m) 1 Hund (♂) mit Leukose
- n) 1 Hund (♀) mit einem Teratom

3.1.3 Hunde mit Parvovirose und Parvoviroseverdacht

Insgesamt wurden 29 Hunde der I. Medizinischen Tierklinik mit Verdacht auf Parvovirusinfektion untersucht. Alle Patienten zeigten typische Symptome wie hämorrhagische Gastroenteritis und/oder Erbrechen. Bei zehn Tieren (7 ♂, 3 ♀) konnte mittels Elektronenmikroskop der Erreger nachgewiesen werden, bei den anderen 19 Hunden (14 ♂, 5 ♀) war dies nicht möglich.

3.1.4 Katzen mit FeLV-Infektion

Von 23 Katzen der I. Medizinischen Tierklinik mit Verdacht auf Infektion mit dem feline Leukosevirus wurde Urin entnommen. Der bei allen Patienten durchgeführte ELISA-Test war bei 19 Tieren (5 ♂, 4 ♀, 9 ♀, 1 ♀) positiv, bei 4 Probanden (1 ♂, 2 ♀, 1 ♀) negativ, was eine Infizierung mit dem FeLV-Virus nicht grundsätzlich ausschließt. 4 Tiere starben innerhalb einer Woche nach der Einlieferung in die Klinik.

3.1.5 Katzen mit feliner infektiöser Peritonitis

Bei 14 Katzen (5 ♂, 3 ♀, 5 ♀, 1 ♀), die ebenfalls aus der I. Medizinischen Tierklinik stammten, wurde aufgrund ihres typischen Exsudats (Laborkontrolle) und hoher Antikörpertiter (Serumneutralisations-Test) eine Infektion mit feliner infektiöser Peritonitis diagnostiziert und Urin gewonnen. Es handelte sich folglich um an der "nassen" exsudativen Verlaufsform erkrankte Tiere.

3.1.6 Materialgewinnung

Der Harn wurde bei fast allen Tieren - klinisch gesunden und Patienten - in den Vormittagsstunden gewonnen. Den Vergleichshunden wurde der Harn mittels Metallkatheter entnommen, den tumorverdächtigen Patienten der Chirurgischen Tierklinik mit Plastikkatheter. Die Urinentnahme erfolgte vornehmlich präoperativ, in einigen Fällen auch unmittelbar nach der Operation. Dieser Umstand machte es notwendig, die Auswirkungen von Narkose, Operationstrauma und eventuellem Blutverlust auf die Pteridinwerte zu kontrollieren. Dabei wurde Hunden, die zu operativen Eingriffen anstanden, vor der Narkose und direkt postoperativ mittels Plastikkatheter Harn entnommen. Bei den Patienten der I. Medizinischen Klinik (Parvovirose) handelt es sich um spontan abgesetzten Urin.

Sowohl den klinisch gesunden Katzen als auch den meisten kranken Tieren wurde der Harn manuell aus der Blase massiert. Verschiedenemale wurde auch Spontanharn gewonnen. Bei infauster Prognose (FIP-Katzen) wurde kurz vor der Euthanasie die Blase punktiert.

3.1.7 Materiallagerung

Der frisch gewonnene Harn (durchschnittl. 1 - 5 ml) wurde in Eppendorf-Cups (Größe 1,5 ml) zu je 1 ml abgefüllt.

Urinsedimente, die aus Kalziumphosphat, Kalziumoxalat und Kalziumkarbonat bestehen, enthalten keine Pteridine und kein Creatinin. Hier wurde das ganze Neopterin und Creatinin im Überstand gefunden. Im Gegensatz dazu läßt sich bei den Urinsedimenten von Harnsäure und Natriumurat im Niederschlag Neopterin und Creatinin feststellen. Im Überstand waren die Neopterinwerte 16% und die Creatininwerte 10% niedriger als in der Ausgangssubstanz. Um diese Sedimentierung zu verhindern, werden zu je 1 ml Urin 10 mg EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) gegeben (HAUSEN et al., 1982).

Nicht sofort aufgearbeitete Proben werden bei -20°C in Dunkelheit tiefgefroren, um jegliche Photooxidation zu vermeiden.

3.2 Methodik

3.2.1 Aufarbeitung der Urinproben (modifiziert nach FUKUSHIMA und NIXON, 1980 und STEA et al., 1980)

Da die Auftrennung der zu bestimmenden Pteridine mit reversed-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) und ihre quantitative Messung mittels Fluoreszenzdetektion geschieht, ist es erforderlich, die nicht fluoreszierenden Dihydro- und Tetrahydropteridine in die fluoreszierenden, oxidierten Formen überzuführen.

Alle verwendeten Chemikalien haben suprapur-Qualität (Merck, Darmstadt, wenn nicht anders angegeben).

Aus dem Eppendorf-Cup mit unmittelbar gewonnenem oder aufgetautem Urin wird 1 ml in ein Reagenzglas pipettiert. Dann wird die Probe mittels 300 μ l in HCl zur Proteinfällung auf pH 1 gebracht. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wegen der Lichtempfindlichkeit der Pteridine bei Rotlicht.

Zur Oxidierung der reduzierten Derivate wird die Probe mit einer 1% KJ / 0,5% J_2 -Lösung im Überschuß versetzt (200 μ l sind meist ausreichend, doch in einigen Fällen sind bis zu 400 μ l notwendig), wobei sämtliche Inhaltsstoffe jodiert werden. Die vollständige Oxidation wird mit dem Stärketest überprüft. Bei ausreichender Oxidation kommt es zu einer intensiven Blaufärbung, wenn man auf der Tüpfelplatte zu 50 μ l Probe 50 μ l Stärke gibt. Anschließend wird die Probe 60 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln stehen gelassen. Laut STEA et al. 1980 würden 15 Minuten in der Mehrzahl der Fälle ausreichen, doch gelegentlich ist eine wesentlich längere Inkubation erforderlich. Weitere Möglichkeiten wären die Zugabe von 1%igem H_2O_2 und anschließender Inkubation von 15 Minuten oder ein 20-minütiges siedendes Wasserbad, wobei letzteres schlechtere Ergebnisse nach sich bringt. Am Ende der Reaktion werden 200 μ l 1%ige Ascorbinsäure zugegeben, um das überschüssige Jod zu entfernen. Bei der Überprüfung durch den Stärketest tritt Entfärbung ein.

Die Probe wird nun bei ca. 6000 Umdrehungen 15 Minuten zentrifugiert, um die ausgefällten Eiweißbestandteile abzutrennen.

Der Überstand wird auf eine mit Dowex 50W x 8 / 100-200 mesh (Sigma, Heidelberg) gefüllte Kationenaustauschersäule (30 x 5 mm) aufgetragen, um hochmolekulare und andere fluoreszierende Stoffe, die bei der HPLC-Bestimmung stören, zu entfernen. Das Eluat wird verworfen.

Die Säule wird jetzt mit 16 ml millipore-Wasser gewaschen und das Eluat aufgefangen. Das gewonnene Eluat - Eluat I bezeichnet - enthält ca. 99% des Isoxanthopterin, das wegen seines niedrigen pKa-Werts nicht an der Kationenaustauschersäule zurückgehalten wird. Anschließend werden 6 ml 1N NH_4OH (pH 9) auf die Säule gegeben, wobei alle restlichen hier bestimmten Pteridine (Neopterin, Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin und Pterin) eluiert werden (Eluat II). Dieses Eluat II wird mit 400 μl Eisessig neutralisiert, um zum einen den pH-Sprung zum Lösungsmittel zu verringern (Fluoreszenz pH-abhängig) und zum anderen, weil das Injektionsventil zur HPLC-Säule alkalische pH-Werte nicht verträgt.

Aus den Eluaten I und II wird nach kräftigem Schütteln je 1 ml entnommen, in Eppendorf-Cups gefüllt und - falls nicht sogleich auf die HPLC-Säule aufgetragen - bei -20°C tiefgefroren.

3.2.2 Reversed-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Die weitere Reinigung der beiden Fraktionen erfolgt nun über reversed-phase HPLC und die Quantifizierung durch Fluoreszenzspektrometrie.

Das HPLC-System besteht aus einer Pumpe (Biotronik BT 3020, Maintal), einem automatischen Probenaufgeber Deripas BT 0421 (Biotronik, Maintal), einem Fluoreszenzdetektor Modell RF 530 (Shimadzu, Japan) und einem chromatopac-Integrator C-R3A (Shimadzu, Japan).

Als mobile Phase dient ein 1,7 mmolarer Phosphorsäurepuffer mit 7% Methanol und 1% Acetonitril (pH 2,75), der vorher gefiltert (0,4 μ m-millipore-Filter) und entgast wird.

Die stationäre Phase besteht aus einer 5 μ -Spherisorb ODS II (Octadecylsilan)-Säule (500 x 4,6 mm Innendurchmesser), der eine Vorsäule (20 x 4,6 mm Innendurchmesser) vorausgeschaltet ist.

Die Flußrate beträgt 1,0 ml pro Minute.

Die Messung der Pteridine geschieht bei einer Excitation von 350 nm und einer Emission von 450 nm. Die Identifikation der Peaks erfolgt anhand der verschiedenen Retentionszeiten, die Konzentrationsmessung im Vergleich zum jeweiligen Standard. Dabei wird vor und während jeder Meßreihe mit Standardpteridinen (Dr. B. Schircks, Wettswil, Schweiz) die Reproduzierbarkeit geprüft. Mit diesen kommerziell synthetisch hergestellten Referenzsubstanzen, die einen Reinheitsgrad von über 99% besitzen, werden die Pteridinkonzentrationen geeicht. Die Wiederfindung nach der Aufarbeitung liegt bei über 95%. Die aufgearbeiteten Proben werden zur Kontrolle doppelt oder dreifach hintereinander - auch in größeren Zeitabständen - reproduziert.

Die Gesamtanalysenzeit beträgt bei beiden Eluaten jeweils 20 Minuten, wobei die einzelnen Retentionszeiten im Eluat I bei ca. 15 Minuten (Isoxanthopterin), im Eluat II bei ca. 8,5 Minuten (Neopterin), 13,5 Minuten (Biopterin), 16 Minuten (6-Hydroxymethylpterin) und 17 Minuten (Pterin) liegen.

3.2.3 Creatininbestimmung

Um die meist deutlich schwankende Konzentrierung der Harne zu relativieren - eine quantitativ vollständige Sammlung von 24-Stunden-Harn war nicht möglich - bestimmen wir von jeder Urinprobe die Creatininkonzentration (in mg pro ml). Die Pteridine in μg werden auf die Creatininkonzentration bezogen.

Creatinin - ein stickstoffhaltiges Endprodukt des Eiweißstoffwechsels, das endogen im Muskelstoffwechsel entsteht - ist neben dem spezifischen Gewicht der beste Indikator für die Nierenfunktion, da Creatinin in der Niere weder reabsorbiert noch durch die Tubuli sezerniert wird. Die Creatininkonzentration bietet so - eine physiologische Nierenfunktion vorausgesetzt - die geeignete relative Bezugsgröße.

Die Creatininbestimmung erfolgt mit der Test-Combination Creatinin (Boehringer, Mannheim), modifiziert nach der Methode von JAFFE (1886) mit Enteiweißung. Das Testprinzip der in Doppelreihe durchgeführten Messung beruht darauf, daß Creatinin in alkalischer Lösung mit Pikrat einen gelb-orange gefärbten Komplex bildet, dessen Farbintensität der Creatininintensität proportional ist. Sie wird bei einer Wellenlänge von 546 nm Hg photometrisch gemessen.

Wie vergleichende Untersuchungen mit dem vollenzymatischen Creatinin PAP-Farbttest (Boehringer, Mannheim) zeigten, kommt man in dem von uns gemessenen Bereich zu linearen Werten. Einflüsse, wie Cephalosporine, Ascorbinsäure und Ketonkörper scheiden aus, ebenso mögliche Abweichungen in von uns nicht erreichten Konzentrationen (DIAGNOSTICA DIALOG 1986).

3.2.4 Statistik

In den Tabellen sind die Ergebnisse jeweils als Mittelwerte mit der dazugehörigen Standardabweichung ($\bar{x} \pm SD$) angegeben. In wenigen Fällen finden auch Einzelwerte Verwendung. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen und den Vergleichstieren wurden durch parameterfreie Tests verglichen. Nach dem H-Test von KRUSKAL und WALLIS zur Feststellung der Gruppenunterschiede wurde mit Hilfe des U-Tests von WILCOXON, MANN und WHITNEY (SACHS, 1984) auf eine Signifikanz zu den Vergleichswerten geprüft. Dabei wird $p < 0,05$ als signifikant bezeichnet.

4 ERGEBNISSE

4.1 Klinisch gesunde Tiere

Hunde

Bei 28 Vergleichstieren (15 ♂, 13 ♀) ließen sich keine nennenswert unterschiedlichen Pteridinwerte bezüglich Rasse, Größe und Alter feststellen. Auch die Differenzen zwischen beiden Geschlechtern fielen so aus, daß sie zu einer Gruppe "Vergleichswerte" zusammengefaßt werden konnten. Während bei den männlichen Hunden Neopterin und Isoxanthopterin leicht über dem Gesamtdurchschnitt lagen, war bei den weiblichen Tieren Biopterin etwas höher als dieser. Insgesamt war die Pteridinexkretion bei den Rüden etwa 3% höher als bei den Hündinnen.

Die bei allen folgenden Tabellen angegebenen Vergleichswerte im Urin gesunder Hunde sind $0,038 \pm 0,019 \mu\text{g}$ Neopterin/mg Creatinin, $2,00 \pm 0,56 \mu\text{g}$ Biopterin/mg Creatinin, $0,104 \pm 0,046 \mu\text{g}$ Pterin/mg Creatinin und $0,65 \pm 0,26 \mu\text{g}$ Isoxanthopterin/mg Creatinin (Tab. 1).

Im Vergleich zum Menschen ist die Neopterinausscheidung beim Hund um den Faktor 20 erniedrigt, das Pterin ist geringfügig niedriger, dagegen liegen die Werte für Isoxanthopterin 5mal so hoch und Biopterin ist um 1/3 erhöht.

6-Hydroxymethylpterin wurde nur bei wenigen Hunden in Spuren festgestellt, so daß es vernachlässigt werden kann.

Die beim Menschen sehr häufig aufgestellte Neopterin/Biopterin-Ratio verliert bei den Hunden (Neopterin 20mal niedriger) ihre Aussagekraft.

Tab. 1:

Pteridinwerte im Harn gesunder Hunde (Vergleichswerte) in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin	Gesamtpteridin- exkretion
♂	0,043	1,97	0,105	0,71	2,828
n=15	$\pm 0,022$	$\pm 0,43$	$\pm 0,046$	$\pm 0,26$	
♀	0,032	2,03	0,103	0,57	2,735
n=13	$\pm 0,011$	$\pm 0,67$	$\pm 0,046$	$\pm 0,23$	
♂ + ♀	0,038	2,00	0,104	0,65	2,792
n=28	$\pm 0,019$	$\pm 0,56$	$\pm 0,046$	$\pm 0,26$	

Biopterin ist mit über 70% der weitaus größte Teil der gemessenen Gesamtpteridinausscheidung (Abb. 5).

Bei den zur Überprüfung von Narkose, Operationstrauma und eventuellem Blutverlust kontrollierten Hunden, an denen nicht-neoplasiebedingte Operationen (Osteosynthesen, Implantatentfernung, Kastration) vorgenommen worden sind, wurden vor und unmittelbar nach dem Eingriff keine signifikanten Veränderungen in den Pteri-

dinwerten gefunden. Somit können die Tiere mit Tumoren, von denen erst postoperativ Urin gewonnen wurde, ohne Bedenken in die Meßreihen übernommen werden.

Katze

Auch bei den klinisch gesunden Katzen (7 ♂, 14 ♀) waren keine Unterschiede in den Pteridinkonzentrationen bezüglich Rasse, Größe und Alter feststellbar. Da es sich bei den meisten Tieren um Europäische Hauskatzen handelte, war der Größenunterschied allerdings nicht sehr groß. Da sich die geschlechtsspezifischen Unterschiede in denselben Grenzen hielten wie bei den Hunden, ließen sich männliche und weibliche Katzen ebenfalls zu einer Vergleichsgruppe zusammenfassen. Neopterin und Pterin waren nahezu gleich, während Biopterin bei den Katern und 6-Hydroxymethylpterin und Isoxanthopterin bei den Kätzinnen im Vergleich zum Gesamtdurchschnitt erhöht waren.

Die Pteridinexkretion im Urin gesunder Katzen beträgt durchschnittlich $0,022 \pm 0,010$ µg Neopterin, $0,44 \pm 0,11$ µg Biopterin, $0,028 \pm 0,026$ µg 6-Hydroxymethylpterin (6-HMP), $0,070 \pm 0,033$ µg Pterin und $0,63 \pm 0,23$ µg Isoxanthopterin. Alle µg-Werte beziehen sich dabei auf mg Creatinin.

Bis auf das 6-Hydroxymethylpterin, das ja beim Hund kaum vorkommt, und das Isoxanthopterin sind alle "Katzennormalwerte" niedriger als die "Hundenormalwerte", Biopterin gar um den Faktor 5 und Neopterin um das Doppelte. Auch die Gesampteridinausscheidung im Urin ist eineinhalb mal geringer als beim Hund, wobei bei den Katzen die weiblichen Tiere eine leicht höhere Exkretion zeigen als die männlichen.

Tab. 2:

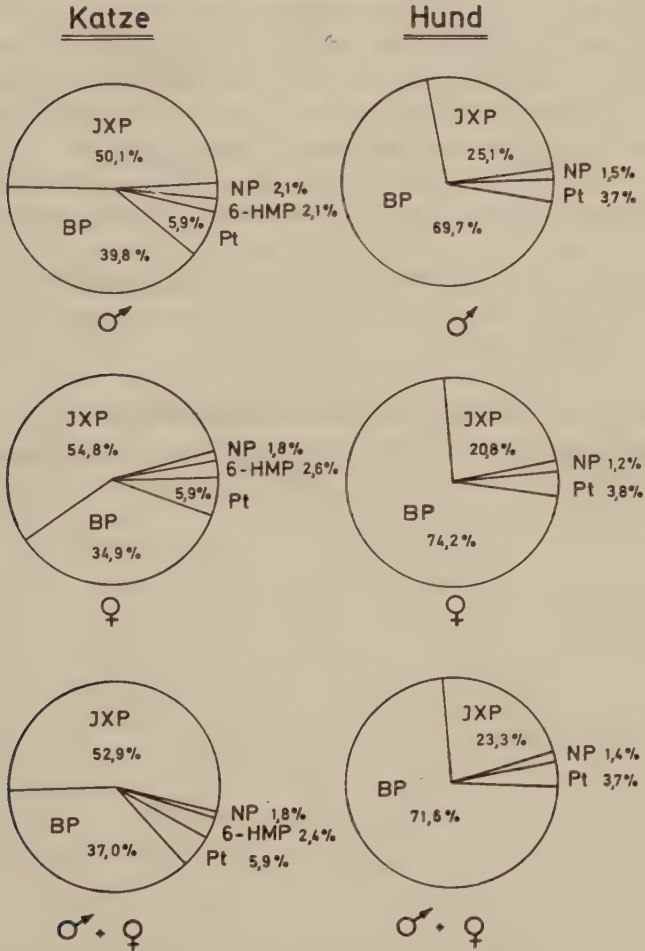
Pteridinwerte bei der gesunden Katze (Vergleichswerte) in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neo- pterin	Bio- pterin	6-HMP	Pterin	Isoxantho- pterin	Gesamtpteri- dinexkretion
♂	0,024	0,46	0,024	0,069	0,58	1,157
n=7	$\pm 0,014$	$\pm 0,07$	$\pm 0,017$	$\pm 0,034$	$\pm 0,27$	
♀	0,022	0,42	0,031	0,071	0,66	1,204
n=14	$\pm 0,007$	$\pm 0,15$	$\pm 0,029$	$\pm 0,033$	$\pm 0,20$	
♂ + ♀	0,022	0,44	0,028	0,070	0,63	1,190
n=21	$\pm 0,010$	$\pm 0,11$	$\pm 0,026$	$\pm 0,033$	$\pm 0,23$	

Die prozentuale Aufschlüsselung der ausgewerteten Pteridine zeigt, daß Isoxanthopterin etwa die Hälfte und damit den Hauptanteil, während Biopterin nur gut ein Drittel ausmacht (Abb. 5).

Abb. 5:

Verteilung der Pteridine bei Katze und Hund in Prozent



JXP = Josoxanthopterin

BP = Biopterin

NP = Neopterin

Pt = Pterin

6-HMP = Hydroxy -
methylpterin

4.2 Hunde mit Neoplasien

a) Mammatumore

Die zahlenmäßig stärkste Einzelgruppe - nicht nur in der fortlaufenden Statistik - bei den Neoplasien der Hündin im mittleren und höheren Alter sind die Mammatumoren. Bei den 21 Patienten (15 Tumore mit wenig malignem Mischtyp, 4 Adenokarzinome, ein Fibromyxosarkom und ein Fibrosarkom) war insgesamt das Neopterin nur unwesentlich angestiegen, Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin signifikant höher als bei den Vergleichswerten (Tab. 3). Dabei fiel auf, daß das Fibromyxosarkom und das Fibrosarkom nur geringfügig höhere Werte als die klinisch gesunden Tiere hatten.

Zwei Rezidivfälle mit wenig malignem Mischtyp zeigten vor dem erneuten Eingriff deutlich gestiegenen Werte bei allen vier Pteridinen gegenüber der ersten Operation.

Vier Tiere mit pathologisch-histologisch nachgewiesenen Mammatumoren wenig malignen Mischtyps erbrachten den Vergleichstieren ähnliche Harngehalte und damit falsch-negative Werte bei allen vier gemessenen Pteridinen (= 19% von n).

Tab. 3:

Pteridinwerte bei Hunden mit Mammatumoren (n=21) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Mammatumore	0,044 $\pm 0,017$	2,40 $\pm 0,67$	0,244 $\pm 0,182$	0,98 $\pm 0,58$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,01$

n.s. = nicht signifikant

b) Perianaldrüsentumore

Die nur beim Hund vorkommenden Analdrüsen sind bei Rüden besonders häufig tumorös entartet, meist aber benigner Natur. Wir untersuchten den Urin von 12 benignen Adenomen, einem Adenokarzinom und einem Fibrosarkom.

Die Ausscheidung von Neopterin, Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin im Urin ist signifikant gegenüber Vergleichswerten erhöht (Tab. 4).

Die Pteridinwerte der beiden malignen Formen liegen im Bereich der benignen Tumoren.

Tab. 4:

Pteridinwerte bei Hunden mit Perianaldrüsentumoren (n=14) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxanthopterin
Perianaldrüsentumore	0,049 $\pm 0,015$	2,94 $\pm 1,01$	0,213 $\pm 0,060$	0,94 $\pm 0,48$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	$p < 0,025$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,025$

c) Hodentumore

Bei den recht häufig auftretenden Hodentumoren überwiegen die Leydigischen Zwischenzelladenome, so auch bei unserem Patientengut, das aus 7 Leydigischen Zwischenzelltumoren, einem Sertolizell-Tumor und einem Seminom besteht.

Die Konzentrationen von Neopterin, Biopterin und Isoxanthopterin stiegen zwar leicht an, signifikant höher als bei den gesunden Hunden war aber nur das Pterin (Tab. 5).

Die Werte des Sertolizell-Tumors und des Seminoms entsprachen dem Pteridinmuster bei Leydigischen Zwischenzelltumoren.

Auffällig war das gleichzeitige Auftreten von Hodentumoren und Perianaldrüsentumoren in drei Fällen.

Tab. 5:

Pteridinwerte bei Hunden mit Hodentumoren (n=9) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Hodentumore	0,043 $\pm 0,012$	2,43 $\pm 1,05$	0,187 $\pm 0,083$	0,89 $\pm 0,48$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	n.s.	$p < 0,01$	n.s.

n.s. = nicht signifikant

d) Lipome

Im subkutanen Fettgewebe von adipösen Hunden entwickeln sich nicht selten Geschwülste, die eine beträchtliche Größe erreichen können.

Bei den acht untersuchten Hunden mit Fettgeschwülsten war im Urin nur der Biopteringehalt signifikant gegenüber den Ver-

gleichswerten erhöht. Keine Signifikanz, jedoch auch verstärkte Ausscheidung konnte man bei Neopterin, Pterin und Isoxanthopterin nachweisen (Tab. 6).

Hervorzuheben sind die hohen Biopterinwerte (bis 5,09 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin) bei Tieren, deren Tumore schon längere Zeit (bis 2 Jahre) bestanden haben. Diese Feststellung ließ sich auch bei anderen Tumorarten treffen, soweit in den Krankenakten Einzelheiten zur Entwicklung angegeben waren.

Tab. 6:

Pteridinwerte bei Hunden mit Lipomen (n=8) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxanthopterin
Lipome	0,050 $\pm 0,038$	3,56 $\pm 1,23$	0,210 $\pm 0,146$	0,84 $\pm 0,39$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	$p < 0,001$	n.s.	n.s.

n.s. = nicht signifikant

e) Gutartige Hauttumore

Aus dem großen Gebiet der gutartigen Hautgeschwülste wurden zwei Histiozytome, ein Trichoepitheliom, ein zystisches Epitheliom, ein Talgdrüsenadenom und drei histologisch nicht klassifizierte Hauttumore untersucht.

Dabei war im Gegensatz zu den Lipomen die Neopterin- und die Pterinexkretion trotz Benignität signifikant erhöht, während Biopterin und Isoxanthopterin nur wenig über den Vergleichswerten gesunder Hunde lagen (Tab. 7).

f) Knochen- bzw. Knorpeltumore

Große Hunderassen und lange Röhrenknochen sind prädisponiert für Osteosarkome. Metastasierung in die Lunge kommt recht oft vor.

Der Biopterin- und Pterinspiegel im Urin bei den 6 Knochen- und Knorpeltumoren (5 Osteosarkome und ein Myxochondrosarkom) war besonders hoch (signifikant), während Isoxanthopterin gleich und Neopterin gar leicht unter den Werten gesunder Tiere blieb. (Tab. 8).

Spitzenwerte in der Biopterin- ($4,27 \mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin) und Pterinausscheidung ($0,470 \mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin) wurden bei einer Hündin mit röntgenologisch nachweisbaren Lungenmetastasen gefunden.

Beim Myxochondrosarkom war der Neopterinwert stark gesunken ($0,017 \mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin). Pterin war nicht nachweisbar.

Tab. 7:

Pteridinwerte bei Hunden mit gutartigen Hauttumoren (n=8) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Bioppterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Gutartige Hauttumore	0,059 $\pm 0,021$	2,20 $\pm 0,65$	0,249 $\pm 0,130$	0,83 $\pm 0,47$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	$p < 0,01$	n.s.	$p < 0,005$	n.s.

n.s. = nicht signifikant

Tab. 8:

Pteridinwerte bei Hunden mit Knochen- bzw. Knorpeltumoren (n=6) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Knochen-/Knorpeltumore	0,035 $\pm 0,017$	3,09 $\pm 0,76$	0,315 $\pm 0,137$	0,67 $\pm 0,27$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	$p < 0,005$	$p < 0,005$	n.s.

n.s. = nicht signifikant

g) Mastzelltumore

Die gelungene zellfreie Übertragung und der Nachweis virus-ähnlicher Partikel sprechen für eine Virusätiologie bei den fünf ausgewerteten Mastzelltumoren, die zu den mesenchymalen Hautgeschwülsten des Hundes zählen und als potentiell maligne gelten.

Alle vier gemessenen Pteridine wurden im Urin in erhöhter Konzentration nachgewiesen, eine Signifikanz ließ sich aber nur für das Pterin errechnen (Tab. 9).

Bei einem Tier kam es ein Vierteljahr nach der Erstoperation zur Rezidivbildung. Alle vier Pteridinwerte waren im Vergleich zur Erstoperation deutlich angestiegen (Neopterin 0,075 nach 0,043 μg , Biopterin 2,61 nach 2,16 μg , Pterin 0,133 nach 0,101 μg und Isoxanthopterin 1,11 nach 0,51 μg , bezogen auf mg Creatinin). Die bei der Erstoperation gemessenen Werte bewegten sich jedoch im Normalbereich und deuteten nicht auf eine Rezidivierung hin.

Tab. 9:

Pteridinwerte bei Hunden mit Mastzelltumoren (n=5) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Bioppterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Mastzelltumore	0,047 $\pm 0,020$	2,60 $\pm 0,97$	0,240 $\pm 0,115$	0,86 $\pm 0,25$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	n.s.	$p < 0,01$	n.s.

n.s. = nicht signifikant

h) Sarkome

Relativ gering fiel die Steigerung der Pteridinausscheidung bei den malignen Geschwülsten der Bindegewebsreihe aus.

Bei den drei Fibrosarkomen der Haut, dem Liposarkom und dem Rhabdomyosarkom zeigte nur das Isoxanthopterin signifikant erhöhte Werte, Neopterin, Biopterin und Pterin lagen nur unwesentlich über den Vergleichswerten (Tab. 10).

Im Vergleich zu den gutartigen Lipomen war beim Liposarkom Neopterin (0,093 zu 0,050 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin) und Isoxanthopterin (1,50 zu 0,84 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin) deutlich angestiegen.

i) Augentumore

Bei gemeinsamer Betrachtung von malignen und benignen Augentumoren konnte man eine zur Vergleichsgruppe signifikant vermehrte Biopterin- und Pterinexkretion messen, Neopterin und Isoxanthopterin waren nur geringfügig erhöht (Tab. 11).

Wertet man die drei malignen Tumoren gesondert, so ging aufgrund der kleinen n-Zahl die Signifikanz bei Biopterin verloren, obwohl alle vier Pteridinkonzentrationen gegenüber den Kontrolltieren erheblich angestiegen sind (Tab. 11).

Die zwei benignen Tumore zeigten nur bei Biopterin und Pterin erhöhte Werte, Neopterin und Isoxanthopterin blieben unverändert. Aufgrund von nur zwei Probanden erfolgte keine Signifikanzberechnung (Tab. 11).

Tab. 10:

Pteridinwerte bei Hunden mit Sarkomen (n=5) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Sarkome	0,050 $\pm 0,025$	2,30 $\pm 0,80$	0,139 $\pm 0,055$	1,06 $\pm 0,23$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	$p < 0,005$

n.s. = nicht signifikant

Tab. 11:

Pteridinwerte bei Hunden mit Augentumoren (n=5) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Augentumore (gesamt)	0,043 $\pm 0,013$	2,54 $\pm 0,45$	0,217 $\pm 0,103$	0,71 $\pm 0,16$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	$p < 0,05$	$p < 0,025$	n.s.
Maligne Augentumore (n=3)	0,048 $\pm 0,010$	2,60 $\pm 0,57$	0,256 $\pm 0,085$	0,78 $\pm 0,17$
Signifikanz	n.s.	n.s.	$p < 0,025$	n.s.
Benigne Augentumore (n=2)	0,036 $\pm 0,013$	2,44 $\pm 0,09$	0,159 $\pm 0,100$	0,62 $\pm 0,02$

n.s. = nicht signifikant

j) Adenokarzinome und Karzinome

Aus der Reihe der malignen epithelialen Geschwülste stammen die vier Adenokarzinome und vier Karzinome verschiedener Lokalisation. Betrachtet man die Adenokarzinome (Niere, Pfote, Ohr, Schweißdrüse) und Karzinome (Blase, Niere, Nebenniere, Lunge) der höheren Probandenzahl halber als eine Gruppe, so war Neopterin, Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin signifikant erhöht gegenüber gesunden Tieren (Tab. 12).

Teilte man die bösartigen Tumore jedoch in Adenokarzinome und Karzinome, so war bei den Adenokarzinomen trotz stark gesteigerter Pteridinexkretion die Signifikanz bis auf das Isoxanthopterin nicht mehr gegeben, bei den Karzinomen blieb die Signifikanz dagegen bis auf die Pterinausscheidung erhalten (Tab. 12).

Sowohl bei den Adenokarzinomen als auch bei den Karzinomen ergaben sich bei allen gemessenen Pteridinen Höchstwerte, die um das 3- bis 10-fache über den Vergleichsangaben lagen (Neopterin bis 0,141 μg , Biopterin bis 6,86 μg , Pterin bis 0,580 μg und Isoxanthopterin bis 6,88 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin).

Aber es wurden auch bei zwei Tieren niedrige, falsch-negative Werte gemessen (= 25% von n), was die großen Standardabweichungen und fehlende Signifikanzen erklärt.

Tab. 12:

Pteridinwerte bei Hunden mit Adenokarzinomen und Karzinomen (n=8) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Bioppterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Adenokarzinome und	0,062	3,23	0,276	2,42
Karzinome	$\pm 0,039$	$\pm 1,77$	$\pm 0,190$	$\pm 2,05$
Vergleichsgruppe	0,038	2,00	0,104	0,65
	$\pm 0,019$	$\pm 0,56$	$\pm 0,046$	$\pm 0,26$
Signifikanz	$p < 0,05$	$p < 0,025$	$p < 0,025$	$p < 0,001$
Adenokarzinome	0,051	2,75	0,220	1,90
(n=4)	$\pm 0,026$	$\pm 0,97$	$\pm 0,120$	$\pm 1,27$
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	$p < 0,005$
Karzinome	0,072	3,72	0,333	2,93
(n=4)	$\pm 0,042$	$\pm 2,02$	$\pm 0,216$	$\pm 2,28$
Signifikanz	$p < 0,05$	$p < 0,05$	n.s.	$p < 0,001$

n.s. = nicht signifikant

k) Maligne Melanome

Bei drei Hunden mit malignen Tumoren der Pigmentzellen war die Neopterinausscheidung im Urin erniedrigt, Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin waren deutlich erhöht, wobei aufgrund der geringen Probandenzahl der Anstieg nur bei Pterin eine Signifikanz aufwies (Tab. 10).

Tab. 13:

Pteridinwerte bei Hunden mit malignen Melanomen (n=3) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxanthopterin
Maligne Melanome	0,033 $\pm 0,012$	2,50 $\pm 1,31$	0,207 $\pm 0,093$	0,97 $\pm 0,28$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	n.s.	$p < 0,05$	n.s.

n.s. = nicht signifikant

1) Hämangioendotheliome und Hämangiom

Zum untersuchten Patientenbestand gehörten auch drei Hämangioendotheliome der Milz und eine gutartige Blutgefäßgeschwulst (Hämangiom).

Trotz der Malignität der Hämangioendotheliome war nur die Biopterinkonzentration im Urin stark, jedoch nicht signifikant, erhöht. Neopterin, Pterin und Isoxanthopterin blieben im Bereich der Vergleichswerte, ganz im Gegensatz zum Hämangiom, bei dem Biopterin nicht erhöht war, die übrigen Pteridine aber sehr wohl vermehrt ausgeschieden wurden (Tab. 14).

m) Leukose

Bei der Leukose des Hundes - meist ist das lymphatische Gewebe betroffen - läßt sich eine Virusätiologie nicht eindeutig nachweisen.

Die Pteridinexkretion bei dem einzigen Leukosefall, der im Laufe der Arbeit vorgestellt wurde, war erstaunlicherweise Biopterin und Isoxanthopterin erheblich verringert. Pterin blieb unverändert und nur der Neopterinspiegel im Urin war angestiegen (Tab. 15).

n) Teratom

Recht selten bildet sich im Hundeovar eine kugelige Masse mit histologisch verschiedenen Gewebetypen.

Beim einzigen Teratom war die Pterin- und Isoxanthopterinausscheidung deutlich erhöht, Biopterin und Neopterin bewegten sich um den Normalbereich (Tab. 16).

Tab. 14:

Pteridinwerte bei Hunden mit Hämangioendotheliomen (n=3) und einem Hämangiom (n=1) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Bioppterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Hämangioendotheliom	0,050 $\pm 0,005$	2,82 $\pm 1,01$	0,109 $\pm 0,032$	0,73 $\pm 0,17$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Hämangiom (n=1)	0,067	2,19	0,713	0,88

n.s. = nicht signifikant

Tab. 15:

Pteridinwerte bei einem Hund mit Leukose (n=1) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Leukose	0,062	1,57	0,110	0,26
Vergleichsgruppe	0,038	2,00	0,104	0,65
	$\pm 0,019$	$\pm 0,56$	$\pm 0,046$	$\pm 0,26$
=====				

Tab. 16:

Pteridinwerte bei einem Hund mit einem Teratom (n=1) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Teratom	0,028	2,13	0,606	1,48
Vergleichsgruppe	0,038	2,00	0,104	0,65
	$\pm 0,019$	$\pm 0,56$	$\pm 0,046$	$\pm 0,26$

4.3 Hunde mit Parvovirose und Parvoviroseverdacht

Wie schon in 3.1.3 erwähnt, wurde von 29 Hunden mit Parvoviroseverdacht Harn gewonnen und untersucht.

Die 10 Patienten, bei denen das Virus nachgewiesen werden konnte, zeigten insgesamt eine stark erhöhte Pteridinausscheidung. Vor allem bei Biopterin lagen die Spitzenwerte weit über den der Tumoren (bis 12,08 µg/mg Creatinin). Die Neopterin-, Biopterin- und Isoxanthopterinderivate waren signifikant höher als die der klinisch gesunden Tiere. Dagegen war Pterin nur unwesentlich angestiegen.

Die anderen 19 Hunde, die zwar mit Parvovirose-Symptomen eingeliefert wurden, bei denen der Virusnachweis aber nicht erbracht werden konnte, unterschieden sich in der Pteridinexkretion deutlich von den parvopositiven Tieren. Bei den virusnegativen, parvoverdächtigen nämlich war Pterin als einziges signifikant erhöht, das bei den Parvopositiven kaum über Normalwerten lag. Neopterin, Biopterin und Isoxanthopterinderivate waren zwar auch leicht angestiegen und einzelne Tiere erbrachten "parvopositive Pteridinderivate" (falsch-positiv, = 16%), ließen aber die Unterscheidungsmöglichkeit Parvopositiv und Parvonegativ anhand des Pteridindinmusters im Vergleich zu Werten klinisch gesunder Tiere zu (Tab. 17).

Vergleich man parvopositive Tiere direkt mit parvoverdächtigen (und läßt die Vergleichswerte außer acht) auf signifikante Unterschiede, so war nur der Neopteringehalt im Urin parvopositiver Tiere signifikant höher als der von Hunden mit parvoähnlichen Symptomen (Tab. 18).

Tab. 17:

Pteridinwerte bei Hunden mit Parvovirusinfektion (n=10) und Parvoviroseverdacht (n=19) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxanthopterin
Parvovirusinfektionen	0,072 $\pm 0,039$	4,97 $\pm 3,53$	0,134 $\pm 0,076$	1,17 $\pm 0,56$
Vergleichsgruppe	0,038 $\pm 0,019$	2,00 $\pm 0,56$	0,104 $\pm 0,046$	0,65 $\pm 0,26$
Signifikanz	$p < 0,01$	$p < 0,01$	n.s.	$p < 0,01$
Parvoverdacht (Virus nicht nachweisbar)	0,047 $\pm 0,038$	2,64 $\pm 1,40$	0,207 $\pm 0,124$	1,05 $\pm 0,77$
Signifikanz	n.s.	n.s.	$p < 0,005$	n.s.

n.s. = nicht signifikant

Tab. 18:

Prüfung auf Signifikanz bei Hunden mit Parvovirose zu Hunden mit Parvoviroseverdacht

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Signifikanz	$p < 0,05$	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = nicht signifikant

4.4 Katzen mit FeLV-Infektion

Die 19 ELISA-positiven Katzen erbrachten durchwegs eine hochsignifikante Steigerung der Exkretion für alle 5 gemessenen Pteridine. Die Pteridinausscheidung war im Schnitt doppelt so groß wie bei vergleichbaren gesunden Katzen (Tab. 19).

Die Pteridinwerte der vier innerhalb einer Woche gestorbenen Katzen waren noch einmal wesentlich höher als die klinisch nicht so ernsthaft erkrankten bzw. klinisch gesunden Tiere (Tab. 19).

Bei den vier ELISA-negativen Katzen war die Pteridinkonzentration nur wenig über dem Niveau der Vergleichstiere, Biopterin entspricht sogar exakt dem Wert gesunder Tiere (Tab. 19).

Tab. 19:

Pteridinwerte bei Katzen mit feliner Leukosevirusinfektion (n=19) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neo- pterin	Bio- pterin	6-HMP	Pterin	Isoxantho- pterin
FeLV-positive	0,040	0,95	0,044	0,130	1,20
(ELISA-positiv)	$\pm 0,018$	$\pm 0,34$	$\pm 0,032$	$\pm 0,052$	$\pm 0,59$
Vergleichsgruppe	0,022	0,44	0,028	0,070	0,63
	$\pm 0,010$	$\pm 0,11$	$\pm 0,026$	$\pm 0,033$	$\pm 0,23$
Signifikanz	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Tiere ad exitum	0,058	1,36	0,078	0,159	2,20
in einer Woche (n=4)	$\pm 0,018$	$\pm 0,34$	$\pm 0,037$	$\pm 0,022$	$\pm 0,31$
ELISA-negative (n=4)	0,031	0,43	0,041	0,089	1,09
	$\pm 0,009$	$\pm 0,15$	$\pm 0,023$	$\pm 0,047$	$\pm 0,40$

4.5 Katzen mit feliner infektiöser Peritonitis

Auch die 14 nachweislich an feliner infektiöser Peritonitis erkrankten Katzen schieden signifikant mehr Pteridine im Urin aus als die Vergleichsgruppe. Die Signifikanz war bei allen 5 untersuchten Pteridinen gegeben (Tab. 20). Die Spitzenwerte waren noch höher als bei den FeLV-infizierten Katzen (u.a. Neopterin bis 0,175 µg, Biopterin bis 2,38 µg, 6-HMP bis 0,083 µg, Pterin bis 0,885 µg und Isoxanthopterin bis 2,54 µg/mg Creatinin).

Eine Katze erbrachte falsch-negative Ergebnisse bei allen Pteridinen (= 7% von n).

Die Abweichungen innerhalb der einzelnen Pteridine waren bei den FIP-Katzen wie bei den anderen Virusinfektionen (Parvovirose und Leukose) erheblich größer als bei den Tumorzuständen.

Tab. 20:

Pteridinwerte bei Katzen mit feliner Pterionitis (FIP) (n=14) im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	Neo- pterin	Bio- pterin	6-HMP	Pterin	Isoxantho- pterin
FIP	0,070 $\pm 0,052$	1,00 $\pm 0,58$	0,045 $\pm 0,020$	0,271 $\pm 0,256$	1,42 $\pm 0,71$
Vergleichsgruppe	0,022 $\pm 0,010$	0,44 $\pm 0,11$	0,028 $\pm 0,026$	0,070 $\pm 0,033$	0,63 $\pm 0,23$
Signifikanz	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

4.6 Pteridine im Überblick

Einen zusammenfassenden Überblick über die Veränderung des Pteridinmusters bei den verschiedenen Tumoren und bei der Parvovirusinfektion des Hundes gibt Tabelle 21.

Mit einigen Tumoren stehen verschiedene Pteridinmuster im Zusammenhang, nach dem sie im Anschluß an die Pteridinbestimmung einordbar sind. Perianaldrüsentumore und Adenokarzinome/Karzinome, Knochentumore und Augentumore, Hodentumore, Mastzelltumore, maligne Melanome und Hunde mit Verdacht auf Parvovirusinfektion besitzen jeweils das gleiche Pteridinmuster.

Tab. 21:

Schematischer Überblick über die Veränderungen im Pteridinmuster bei den verschiedenen Tumoren und bei Parvovirose

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxantho- pterin
Mammatumore	n.s.	↑	↑	↑
Perianaldrüsentumore	↑	↑	↑	↑
Hodentumore	n.s.	n.s.	↑	n.s.
Lipome	n.s.	↑	n.s.	n.s.
Gutartige Hauttumoren	↑	n.s.	↑	n.s.
Knochen-/Knorpeltumore	n.s.	↑	↑	n.s.
Mastzelltumore	n.s.	n.s.	↑	n.s.
Sarkome	n.s.	n.s.	n.s.	↑

Augentumore	n.s.	↑	↑	n.s.
Adenokarzinome/Karzinome	↑	↑	↑	↑
Maligne Melanome	n.s.	n.s.	↑	n.s.
Hämangioendotheliome	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Parvovirose	↑	↑	n.s.	↑
Parvoverdacht	n.s.	n.s.	↑	n.s.

n.s. = nicht signifikant

5 DISKUSSION

Bei Hund und Katze wurden die Normalwerte von fünf unkonjugierten Pteridinen (Neopterin, Biopterin, Pterin, 6-Hydroxymethylpterin und Isoxanthopterin) bestimmt und Veränderungen in Folge von Tumoren und Virusinfektionen in den Pteridinmustern festgestellt. Reduzierte Pteridine, die entweder in der Dihydro- oder Tetrahydroform vorkommen, wurden vor der Analyse einer Oxidierung unterzogen, so daß in dieser Arbeit Unterschiede zwischen den verschiedenen Oxidationsstufen nicht berücksichtigt sind.

5.1 Klinisch gesunde Hunde und Katzen

Unsere Vermutung, daß sich möglicherweise bei den Vergleichshunden unterschiedliche Pteridinwerte bei den verschiedenen Rassen und Größen ergeben würden, wurde nicht bestätigt. Die gemessene Neopterin- und Biopterinausscheidung im Urin entsprach etwa der von DUCH et al. (1984) publizierten Angabe bei Beagle-Hunden.

Altersbedingte Veränderungen in der Exkretion, wie sie am Menschen bei hoher Probandenzahl nachgewiesen wurden (HAUSEN et al., 1982), konnten nicht festgestellt werden. Die Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren waren so minimal, daß sich alle Werte zu einer Gruppe "Vergleichswerte" zusammenfassen ließen. Beim Menschen hatte der Mann eine höhere Neopterinausscheidung als die Frau (STEAL et al., 1980).

6-Hydroxymethylpterin war beim Hund nur in wenigen Fällen und auch da im untersten Meßbereich vorhanden, so daß es vernachlässigt werden mußte.

Pteridinwerte von Katzen sind in der Literatur noch nicht beschrieben. Aufgrund der meist gleichen Rasse und Größe - es

handelte sich fast ausschließlich um die Europäische Hauskatze - konnten die Pteridine als Gesamtvergleichswerte Verwendung finden, nachdem Alter und Geschlecht ebenfalls keine signifikanten Unterschiede erbrachten.

Ein Vergleich der Muster im Urin klinisch gesunder Hunde und Katzen zeigt an den Konzentrationen der in die Untersuchung einbezogenen Pteridine das Bestehen einer Artspezifität. Eine qualitative Übereinstimmung läßt keine Differenzen in der Enzymausstattung und damit in den Wegen des Auf- und Abbaus annehmen. Die quantitativen Unterschiede können Ausdruck unterschiedlich hoher Enzymaktivitäten oder sonstiger Faktoren, wie Substratanfall oder davon abhängiger feed back-Mechanismen, oder unterschiedlicher Behandlung der Pteridine im System der Harnexkretion sein. Gegen letzteres sprechen Befunde aus Vergleichen der Plasma-, Blutzell- und Harnwerte vom Menschen (FINK et al., 1987). Artspezifische Unterschiede sind durch Untersuchungsergebnisse an verschiedenen Spezies angedeutet (DUCH et al., 1984; ROKOS et al., 1985).

Zur Untersuchung des Harns klinisch gesunder Tiere gelangten Probanden, die nicht nach Rasse, Geschlecht und Alter gezielt ausgewählt, sondern uns von den Kliniken zur Verfügung gestellt wurden. Die gemessenen Pteridinwerte erlauben die Aussage, daß kein Einfluß von Rasse, Körpermasse, Geschlecht und Alter auf die Muster sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht besteht.

Der im Vergleich zum Menschen wesentlich geringere Neopterinwert verliert bei Hund und Katze an Aussagekraft und erübrigt die beim Menschen so häufig erstellte Neopterin/Biopterin-Ratio.

Sowohl beim Hund als auch bei der Katze gab es keine falschen positiven Werte bei allen vier bzw. fünf Pteridinen eines Tieres. Erhebliche Divergenzen bei den einzelnen Pteridinen nach oben oder unten waren bisweilen der Fall, woher auch die relativ

großen Standardabweichungen stammten.

5.2 Pteridine bei den verschiedenen Neoplasien des Hundes

Die weitergehende Frage war nun, ob bestimmte Erkrankungen, die, wie aus Untersuchungen am Menschen bekannt, mit Veränderungen der ausgeschiedenen Pteridinmengen einhergehen, zu einer grundsätzlichen Änderung der qualitativen Muster oder der Ausscheidungsquantitäten und damit der tierartspezifischen Muster führen können.

Die Feststellung, daß sich beim Menschen der Pteridinspiegel in Blut und Harn bei Neoplasien gegenüber Normalwerten verändert, läßt sich auch auf den Hund übertragen. Nach ROKOS et al. (1980) und STEA et al. (1981) hatte die Ausscheidung der einzelnen Pteridine beim Menschen zu- oder auch abgenommen.

Bei Hunden mit bestimmten Neoplasien kommt es bei den meisten gemessenen Pteridinen zu einer Zunahme im Urin, die je nach Tumorart nur gering ausfällt oder signifikant ist, wobei das artspezifische Muster jedoch erhalten bleibt. Eine Ausnahme macht Neopterin bei Knochentumoren und malignen Melanomen.

Das Neopterin nimmt insgesamt und im Vergleich zum Menschen wegen seiner im Verhältnis zu den anderen Pteridinen relativ geringen Ausscheidungsmenge bei den Hundetumoren einen untergeordneten Platz ein. Die alleinige Neopterinbestimmung - so wie in der Humanmedizin oft geschehen - wäre also nicht aussagekräftig genug. Neopterin ist nur bei drei Tumorarten (Perianaldrüsentumore, gutartige Hauttumore und Adenokarzinome/Karzinome) signifikant gegenüber Vergleichswerten erhöht. Es war folglich sinnvoll, neben dem Neopterin auch noch Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin zu quantifizieren. Mit Ausnahme des 6-Hydroxymethylpterin, das auch bei Geschwülsten selten

auffindbar war, ergeben die unterschiedlichen bzw. signifikanten Anstiege von Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin neben dem Neopterin typische Pteridinmuster für die einzelnen Tumorarten.

Gründe für die Veränderungen der Pteridinoxkretion

Der Grund für die angestiegene Ausscheidung einiger Pteridine bei Tumorpatienten ist immer noch nicht endgültig geklärt. Die verschiedenen Theorien stützen sich auf zwei unterschiedliche Ansatzpunkte, den Nukleotidstoffwechsel und das zelluläre Immunsystem.

Interaktionen zwischen Pteridinen und dem Nukleotidmetabolismus wurden angenommen, nachdem die Konzentrationen von GTP, dem Precursor der Pteridine, in transplantierten Tumoren und Zellkulturen mit Tumorstadium und Malignität korrelieren (KRAML et al., 1976). Hohe Pteridinkonzentrationen könnten deshalb eine Konsequenz hoher GTP-Spiegel sein, wobei die Proliferationsraten der Tumoren unterschiedlich hohe GTP-Werte zur Folge haben. Dies würde sehr gut die quantitativen Unterschiede in den Pteridinmengen bei den verschiedenen Tumoren erklären. In eine ähnliche Kerbe schlägt die These von WILLIAMS et al. (1982). Die Aktivität der Cytosintriphosphat (CTP) -Synthetase, das limitierende Enzym in der CTP-Biosynthese der Leber, soll bei allen schnellwachsenden Tumoren erhöht sein. Auch die erhöhte Aktivität von Adenosinmonophosphat-Desaminase und Inosinmonophosphat (IMP) -Dehydrogenase, die im Zusammenhang mit Proliferationsrate und Malignität stehen (JACKSON und WEBER, 1975), führen zu einer größeren IMP-Bildungskapazität und zu dessen Verwendung in der de novo Biosynthese von GTP.

Für WACHTER und seine Forschergruppe (WACHTER et al., 1980) ist GTP der Hauptkontrollleur der Zellproliferation. Von der Assoziation zwischen Zellproliferation und Pteridinoxkretion ist u.a.

bei der Schwanzregeneration des Triturus berichtet worden (KOKOLIS et al., 1972). Folglich ist die Umwandlung von GTP in die Pteridine der Weg, um die GTP-Konzentration zu regulieren. Möglicherweise können die Pteridine selbst die Zellproliferation bewirken.

WACHTER et al. (1982) erstellten auch die These, daß der Einfluß der Pteridine auf die Regulierung der Entwicklung in der Maskierung von m-RNA-Abschnitten beruhen könnte. Eine Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Pteridinen und den Basen der Nukleotide scheint möglich, so daß so maskierte m-RNAs an den Ribosomen nicht mehr in Proteine umgesetzt werden könnten. Eine Abnahme der Pteridinkonzentration resultiert aus der Abnahme der m-RNA-Maskierung. Andererseits kann der intrazelluläre Pteridinspiegel durch den Anstieg der zellulären Membranpermeabilität, die durch Histamin oder hormonähnlichen Substanzen beeinflusst wird, verringert werden. Das Vorkommen von hohen Histamingehalten bei schnellproliferierendem Gewebe ist bekannt (KAHLSON und ROSENGREN, 1971). Eine gestiegene Zellpermeabilität senkt die intrazelluläre Pteridinkonzentration und begrenzt die m-RNA-Maskierung.

Parallel zur Theorie der Ursache im allgemeinen Nukleotidstoffwechsel entwickelte sich mehr und mehr die Auffassung, daß die Pteridinausscheidung und vor allem deren Erhöhung mit der Proliferation und Differenzierung von T-Lymphozyten zu tun hat. Die T-Lymphozyten reagieren gegen fremde Oberflächenstrukturen (Tumor- und Virusantigene) und erhalten die Selbstintegrität des Organismus. Die Forschung konzentrierte sich auf das Neopterin und durch in vitro Experimente wurde gezeigt, daß durch die Vermittlung von Interferon-Gamma von Makrophagen Neopterin produziert wird (HUBER et al., 1984), was mittlerweile auch in vivo nachvollzogen wurde (siehe 2.6.1). Die Interaktionen zwischen aktivierten T-Lymphozyten und dem Monozyten/Makrophagen-System sind jedoch nicht nur auf die Bildung und Ausschüttung eines einzigen Pteridins (Neopterin) beschränkt (ANDONDONSKAJA-RENN und

ZEITLER, 1985), sondern führen zur gesteigerten Biosynthese des Dihydroneopterintriphosphat aus GTP in den Monozyten/Makrophagen. So kommt es in der Folge über die erhöhte zelluläre Tetrahydrobiopterin-Biosynthese zur Ausschüttung von Biopterin und von katabolem Pterin parallel zu den Maxima von Neopterin.

Allgemeine Mengenabhängigkeiten

Woher aber kommen die unterschiedlichen Veränderungen der ausgeschiedenen Mengen der einzelnen Pteridine bei den verschiedenen Tumoren?

Die Dignität der Geschwülste scheint sich hier im Gegensatz zur Humanmedizin, wo u.a. bei benignen Tumoren keine Erhöhung der Pteridine festgestellt wurde (BICHLER et al., 1982), keine entscheidende Rolle zu spielen. Zwar sind bei den malignen Adenokarzinomen und Karzinomen alle und bei den Mammatumoren drei Pteridine signifikant erhöht, bei den fast ausschließlich gutartigen Perianaldrüsentumoren sind jedoch ebenfalls alle vier gemessenen Pteridine signifikant gegenüber den Vergleichswerten angestiegen. Hier könnten unterschiedliche Entwicklungsgeschwindigkeiten eine Rolle spielen.

Bemerkenswert ist nämlich der Befund, daß ein entsprechend lange bestehender Tumor - was im wesentlichen mehr für benigne Neoplasien und Mammatumoren wenig malignen Mischtyps zutrifft - durchaus sehr hohe Pteridinwerte im Urin bedingt. Dabei sind zwei, manchmal sogar drei Pteridine deutlich angestiegen. Verständlicherweise sind diese länger bestehenden Tumoren nicht selten auch von herausragender Größe.

Von zehn untersuchten Tieren, bei denen sich nachträglich durch das pathologisch-histologische Gutachten ein Tumorverdacht nicht bestätigte, zeigten nur zwei Tiere (Prostatitis/Peritonitis,

Leishmaniose) zwei bzw. drei Pteridine falsch-positive Werte. Alle anderen Tiere hatten ein Pteridinmuster, das den Vergleichstieren entsprach. Die falsch-negativen Werte hielten sich in Grenzen. Bei den Adenokarzinomen/Karzinomen und Mammatumoren waren sie mit 25% bzw. 19% von n noch am zahlreichsten. Vergleicht man die Ergebnisse mit denen aus der Humanmedizin (HAUSEN et al., 1985), wobei sich diese nur auf Neopterin stützen, so ist die Sensivität bei den Neoplasien des Hundes wesentlich größer. Einzelne Werte fielen immer wieder nach beiden Seiten aus dem tumorspezifischen Muster.

Spezifische Mengenabhängigkeiten - Neopterin

Für die Erklärung der unterschiedlichen Neopterinkonzentrationen stellte die humanmedizinische Pteridinforschung einige Hypothesen auf, die teilweise auch für die Tumorphunde Gültigkeit haben könnten. Hohes Neopterin reflektiert eine große Tumorerlastung und fortgeschrittene Krankheit, obwohl hohe Werte auch schon in niedrigen Tumorstadien gefunden wurden. Fortgeschrittenes Tumorstadium wiederum ist verbunden mit einer verminderten zellulären Immunität. Somit wären hohe Neopterinwerte Anzeichen einer geschwächten Immunität und nicht die mögliche Wirtsantwort auf Malignität. Der Tumor muß eine Schwellenzahl an Zellen erreicht haben, bis es zu Defekten in der Immunantwort kommt (NORMANN et al., 1979), was die beobachtete Abhängigkeit des Neopterinpiegels vom Tumorstadium erklären würde. Diese Schwächung wird durch einen tumorinduzierten Mechanismus mittels T-Suppressor-Zellen vermittelter suppressiver Faktoren (hauptsächlich in der Milz produziert) hervorgerufen und hemmt die zytotoxischen Effektorzellen (BURSUKER und NORTH, 1984). Einer dieser suppressiven Faktoren ist Interferon-Gamma, das die Ausscheidung von Neopterin in den Makrophagen induziert (HUBER et al., 1984). Aber auch bei Tumorpatienten mit verminderter Immunität wurden nicht immer hohe Neopterinwerte gefunden. Dies kann

zumindest teilweise durch lokale Einflüsse in den verschiedenen Tumortypen verursacht worden sein.

Wie bei den menschlichen Sarkomen (JIANG et al., 1984), so ist vermutlich auch bei den Sarkomen des Hundes die Anwesenheit von Sarcolectin dafür verantwortlich, daß es zu normalen Neopterinenwerten kommt. Sarcolectin ist ein Interferon-Antagonist, der die Wirkung von Interferon-Gamma herabsetzt. Das Fibrosarkom und Fibromyxosarkom bei Mammatumoren, die Knochen- bzw. Knorpeltumore (alles Sarkome), die Gruppe der Sarkome (mit Ausnahme des Liposarkoms) und die Hämangioendotheliome zeigten Neopterinspiegel, die im Normalbereich lagen.

Eine Bildung von Fibrin, verbunden mit einer Antitumorantwort der Monozyten/Makrophagen, konnte festgestellt werden (DVORAK et al., 1979). Solch eine Fibrinschicht könnte Karzinome befähigen, einem zellulären Immunangriff auszuweichen. Dafür sprechen die Ergebnisse dieser Arbeit nicht (Ausnahme: Lungenkarzinom).

Ein wichtiger Schritt in der Induktion der Immunantwort mittels T-Zellen ist die Expression von Antigen durch Makrophagen (UNANUE et al., 1984). Der Prozentsatz von Makrophagen, welche Ia-Antigene hervorbringen, ist von Gewebe zu Gewebe verschieden, so z.B. niedrig in der Bauchhöhle und in der Lunge (BELLER et al., 1980; WEINBERG und UNANUE, 1981). Eine beschränkte Induktion der Immunantwort in der Lunge könnte den geringen Neopterinanstieg bei dem einzigen Lungenkarzinom erklären lassen.

Die Expression der Ia-Antigene wird durch Prostaglandin E gehemmt (SNYDER et al., 1982). Prostaglandin könnte von intratumorösen Makrophagen produziert werden (DROLLER et al., 1979), welche eine Natural-Killer-Aktivität anwenden sollen (CHOW et al., 1979). Eine verminderte Reaktion der Makrophagen und eine Verringerung der chemotaxischen Reaktion peripherer Blutmonozyten wurde u.a. von Patienten mit Brustkrebs (SNYDERMAN et al., 1978) und Melanomen (SNYDERMAN et al., 1977) berichtet. Dies mag auch die

normalen Neopterinwerte der Mammatumoren und der malignen Melanome des Hundes erklären.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß zwischen dem Neopterin Spiegel im Urin und immunologischen Vorgängen bei Tumorpazienten Gemeinsamkeiten bestehen, die u.a. darin begründet liegen, daß Interferon-Gamma neben seiner bekannten antiviralen Aktivität auch regulatorische Eigenschaften in der Antitumorantwort und eventuell sogar hemmende Effekte auf die Zellteilung ausübt (FRIEDMAN und VOGEL, 1983).

In dieselbe Richtung gehen Vorstellungen, daß die Aktivierung des Immunsystems erst dann beginnt, wenn der Tumor die Lamina propria infiltriert und invasives Wachstum initiiert. Dies würde die Verwendbarkeit des Neopterin für Aussagen zum Tumorstadium bestätigen, daß nämlich nicht erhöhte Werte die Folge noch nicht angestiegener Immunaktivität sind (FRICK et al., 1985).

Andere Autoren versuchen, die unterschiedlichen Neopteringehalte bei den verschiedenen Tumoren mit dem Differenzierungsgrad des Tumors zu erklären. Je geringer eine Geschwulst differenziert ist, desto größer ist die Zunahme der Neopterinausscheidung (FUCHS et al., 1984a).

Biopterin

Es bleibt die Frage zu stellen, ob die unterschiedlichen Veränderungen des Biopteringehaltes auch auf denselben immunologischen Vorgängen beruhen, was nach den Feststellungen von ANDON-
DONSKAJA-RENN und ZEITLER (1985) sehr wahrscheinlich ist. Schon einige Jahre früher stellten ZIEGLER et al. (1982a und 1982b) fest, daß es bei normaler wie auch bei maligner Zellproliferation zur Anhäufung von Biopterin kommt. Ein Mangel an Dihydropterinreduktase (KAUFMAN et al., 1975) - Tetrahydropterin kann nicht mehr von Dihydrobiopterin regeneriert werden - führt zur Akkumulation von Dihydrobiopterin und Biopterin, wie es bei vielen der untersuchten Tumoren der Fall ist. Niedrige Biopterinwerte, zusammen mit erhöhtem Neopterin, sind Anzeichen für Mängel in der Biopterin-Biosynthese im Schritt zwischen Dihydroneopterintriphosphat und Dihydrobiopterin, wie dies bei der Phenylketonurie beschrieben wurde (NIEDERWIESER et al., 1979). Diese Konstellation kommt bei den gutartigen Hauttumoren vor.

Pterin

Die auffälligste Steigerung und die meisten berechenbaren Signifikanzen wies das Pterin auf, das zu den katabolen Produkten des Pteridinstoffwechsels gerechnet wird. Von der Pterinexkretion beim Menschen wurde widersprüchliches berichtet. ANDON-
DONSKAJA-RENN und ZEITLER (1985) sprechen von Spitzen wie bei Neopterin und Biopterin, ROKOS et al. (1980) von niedrigeren Werten bei einigen Krebspatienten. Da die Zusammenhänge von Anabolismus und Katabolismus noch nicht endgültig geklärt sind, läßt sich nur vermuten, daß erhöhte Neopterin- und Biopterinkonzentrationen - vor allem, wenn sie schon länger bestehen - erhöhten Abbau mit sich bringen, d.h. der Pteridinstoffwechsel ist insgesamt gesteigert.

gert.

Isoxanthopterin

Isoxanthopterin, das wiederum mittels Xanthinoxidase (FORREST et al., 1956) aus Pterin entsteht und Endprodukt des Pteridin-katabolismus ist, spiegelt bei einer Erhöhung ebenfalls eine angestiegene Pteridinsynthese mit vermehrtem Katabolismus bzw. Xanthinoxidase-Aktivität wider. Trotz der hemmenden Wirkung auf die Lymphoblastenproliferation in serumfreien Kulturen (ZIEGLER et al., 1983) ist ein direkter Einfluß von Isoxanthopterin auf die Zellproliferation und -reifung nach antigener Stimulation sehr unwahrscheinlich (BOEHRINGER, 1986), da es sich an ein alpha-1-saures Glykoprotein, das im Serum vorhanden ist, anlagert (ZIEGLER et al., 1983).

Insgesamt gesehen scheint ein einzelner Grund für die unterschiedlichen Veränderungen der verschiedenen Pteridine unwahrscheinlich. Es ist weiterhin denkbar, daß die verschiedenen Tumortypen die Fähigkeit zu unterschiedlichen Pteridin-Biosynthesen besitzen, die die Konzentrationsvariationen verursachen könnten.

Ob die erhöhten Pteridinwerte dem tumorös entarteten Gewebe selbst entstammen, d.h. dort gebildet werden, oder die vermehrte Exkretion im Urin von woanders her induziert wird, bleibt in weitergehenden Forschungen zu klären.

Für die Bedeutung eines Tumormarkers beim Menschen sind fünf wichtige Eigenschaften erforderlich, nämlich die Brauchbarkeit zu einer frühen Diagnose, die Korrelation zur Tumorbelastrung, der Nutzen für eine Therapiekontrolle, das Erkennen von Rezidiven und Metastasen und der prognostische Wert (BIRKMEYER et al., 1983). Die Fragestellung, ob nun die Pteridine bei den Neoplasien des

Hundes eine entsprechende Markerfunktion erfüllen können, kann vorläufig nur mit Einschränkungen bejaht werden, da eine Therapiekontrolle, das Erkennen von Rezidiven und Metastasen und folglich der prognostische Wert nicht ausreichend untersucht werden konnten. Das Potential für eine frühzeitige Diagnose ist wahrscheinlich begrenzt (Schwellenwert!).

Die vorliegenden Ergebnisse stellen eine Grundlage zur Verwertbarkeit des Harn-Pteridinmusters zur Beurteilung von Neoplasien dar.

5.3 Pteridine bei Virosen

Bei den Virusinfektionen von Hund und Katze gilt bezüglich der Pteridinoxkretion und der damit im Zusammenhang stehenden Veränderungen im zellulären Immunsystem das bei den Tumoren beschriebene Bild. Die im Vergleich zu den Geschwülsten noch kräftiger gestiegenen Konzentrationen bei fast allen Pteridinen (mit Ausnahme des Pterins bei der Parvovirose) lassen darauf schließen, daß die Antwort des Immunsystems bei Virosen stärker ausgeprägt ist als bei den Tumoren. Die artspezifische Verteilung der einzelnen Pteridine bleibt bei den Virusinfektionen erhalten.

Bezeichnend sind die Verhältnisse bei Hunden mit nachgewiesener Parvovirusinfektion und bei parvoverdächtigen Tieren. Gleiche klinische Symptome, wie bei den parvoverdächtigen Hunden, rufen im Gegensatz zu den Virusträgern keine vermehrte Pteridinausscheidung hervor. Beim Anstieg des katabolen Pterins bei diesen Tieren spielt möglicherweise der Folsäuremetabolismus eine Rolle. Tetrahydrofolsäure wird bei saurer Oxidation zu 50% in Pterin umgewandelt (nur 4% bei alkalischer Oxidation). Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß Pterin wahrscheinlich von der Tetrahydrofolsäure oder deren Derivate abstammt (FUKUSHIMA und NIXON, 1979).

Bei der Katzenleukose und bei der feline infektiösen Peritonitis ist das hier vorkommende 6-Hydroxymethylpterin aufgrund der großen Standardabweichung gerade noch signifikant erhöht. Die enorm gestiegenen Werte aller anderen Pteridine bei innerhalb einer Woche gestorbenen Tieren mit FeLV-Infektion zeigen ihre Aussagekraft für ihr weit fortgeschrittenes Krankheitsstadium an. Wie bei den Virusinfektionen des Menschen (ROKOS et al., 1980) ist auch zwischen der Katzenleukose und FIP keine Unterscheidungsmöglichkeit gegeben.

Angestiegene Pteridinwerte sind also Zeichen einer Immunreaktion des Körpers und sind bei Verdacht auf Virusinfektion gegenüber Testverfahren, die mehr Zeit erfordern, ein echtes zusätzliches Hilfsmittel.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Abschnitt der Arbeit wurden nach Anreicherung durch Ionenaustauschchromatographie verschiedene Pteridine im Urin von gesunden Hunden und Katzen (Vergleichstiere) mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt und die gefundenen Pteridinemuster miteinander verglichen.

Dabei ergaben sich qualitativ und quantitativ artspezifische Unterschiede. 6-Hydroxymethylpterin war beim Hund im Gegensatz zur Katze kaum nachweisbar. Während bei den Hunden der Hauptanteil beim Biopterin lag (ca. 70%), enthielt die Katze als größten Anteil (ca. 53%) das katabole Isoxanthopterin.

Im zweiten Abschnitt der Arbeit wurde mit der gleichen Methodik die Pteridinenexkretion im Urin bei Hunden mit 14 verschiedenen Tumoren untersucht. Desweiteren wurde das Pteridinemuster im Urin bei der Parvovirose des Hundes, bei der Katzenleukose und der feline infektiösen Peritonitis gemessen.

Bei den verschiedenen Tumoren konnten keine qualitativen, jedoch sehr wohl quantitative Veränderungen in den Pteridinkonzentrationen gegenüber den Vergleichswerten festgestellt werden. Die Veränderungen bei den einzelnen Tumoren betrafen aber nicht alle Pteridine, so daß jeder Tumortyp ein eigenes Pteridinemuster zeigte.

Bei der Parvovirusinfektion des Hundes waren Neopterin, Biopterin und Isoxanthopterin signifikant erhöht, bei den virusfreien, parvoverdächtigen Tieren dagegen ausschließlich das Pterin.

Bei der Katzenleukose und der feline infektiösen Peritonitis ergab sich für alle fünf gemessenen Pteridine eine signifikant

erhöhte Ausscheidung im Urin.

Die Befunde weisen darauf hin, daß die Pteridine grundsätzlich im Zusammenhang mit Vorgängen im zellulären Immunsystem stehen. Die spezifischen Veränderungen des Pteridinmusters lassen hier gewisse Unterschiede in der Aktivierung der T-Lymphozyten und sogenannte "lokale Einflüsse" vermuten. Auch ein unterschiedlicher Pteridinstoffwechsel könnte für die gefundenen Werte verantwortlich sein.

SUMMARY

STUDIES AND COMPARISON OF URINARY PTERIDINE PATTERNS IN DOGS AND CATS AND THEIR ALTERATION IN VARIOUS NEOPLASIAS AND VIRUS INFECTIONS

In the first part of the thesis different urinary pteridines of healthy dogs and cats were determined by high pressure liquid chromatography (HPLC) after partial purification by ion exchange chromatography. The measured pteridine patterns were compared.

Healthy dogs and cats produce species specific differences. In contrary to cats 6-hydroxymethylpterin was hardly not detectable in dogs. Whereas in dogs biopterin present the main part of pteridines (about 70%), cats contain about 53% catabolic isoxanthopterin in the pteridine pattern.

In the second part of the thesis the urinary pteridine excretion by dogs with 14 various tumors were examined with the same method. Furthermore the urinary pteridine patterns of the parvovirus of dogs and of feline leucosis and infectious peritonitis was measured.

In the various tumors no qualitative but quantitative alteration in the pteridine concentration could be detected. The changes in the different tumors were not applied to all pteridines, so that each type of tumor shows an own pattern of pteridine.

In the parvovirus of the dog neopterin, biopterin and isoxanthopterin increased significantly. In the virus-free parvovirus suspicious dogs only pterin was elevated.

In the feline leucosis and feline infectious peritonitis a significant rise in urinary excretion of all five measured pteri-

dines were observed.

These results show that pteridines in general are connected with processes in the cellular immune system. The specific alterations in pteridine patterns lead to the supposition of some differences in the activation of T lymphocytes and so-called "local influences". A varying pteridine metabolism also could be responsible for the examined values.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- ALBERT, A., D.J. BROWN and H.C.S. WOOD (1954)
Pteridine studies. Part V. The monosubstituted pteridines
J. Chem. Soc. 3832-3839
- AULITZKY, W., J. FRICK, D. FUCHS, A. HAUSEN, G. KUNIT, G.
REIBNEGGER und H. WACHTER (1984)
Neopterin - ein neuer immunologischer Parameter für maligne
Tumoren des Urogenitaltrakts
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie,
Bd. 365, 902
- BAILEY, S.W. and J.E. AYLING (1975)
High pressure liquid chromatographie of substituted
pteridines and tetrahydropteridines
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Ed.: W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 633-643
- BATTELLI, M.G., E. DELLA CORTE and F. STIRPE (1972)
Xanthinoxidase typ D (dehydrogenase) in the intestine and
other organs of the rat
J. Biochem. 126, 747-749
- BELLER, D.I., J.M. KIELY and E.R. UNANUE (1980)
Regulation of macrophage populations: I. Preferential
induction of Ia-rich peritoneal exudates by immunologic
stimuli
J. Immunol. 124, 1426 - 1432
- BERGMANN, F. and H. KWIETNY (1958)
Pteridines as substrates of mammalian xanthine oxidase
Biochim. Biophys. Acta 28, 613-618

- BERGMANN, F. and H. KWIETNY (1959)
Pteridines as substrates of mammalian xanthine oxidase.
Pathways and rates of oxidation
Biochim. Biophys. Acta 33, 29-46
- BERTHOLD, G. und D. BÜCKMANN (1976)
Pterin- und Ommochromgehalt im Integument grüner und
schwarzbrauner Imagines von *Carausines morosus* Br.
J. Comp. Physiol., 111, 33-37
- BICHLER, A., H. HETZEL, C. MARTH, D. FUCHS, A. HAUSEN, G.
REIBNEGGER and H. WACHTER (1982)
Significance of urinary neopterin in gynecology and
obstetrics: oncology, pregnancy, amniotic fluid
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 1
(Eds.: H. Wachter, H.C. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 141-156
- BIRKMEYER, G.D., J.V. KLAVINS and H.E. NIEBURGS (1983)
Human tumor markers: Biological basis and clinical relevance
New York: Alan Liss Publication Inc.
- BLAKLEY, R.L. (1969)
Natural occurrence of pterines and folate derivatives
In: The Biochemistry of Folic Acid and Related Pteridines,
Frontiers of Biology, Vol. 13
(Eds. A. Neuberger and E.L. Tatum)
North-Holland, Amsterdam/London, 8-57
- BROWN, G.M. (1971)
The biosynthesis of pteridines
Advan. Enzymol. 35, 35-77

BURSUKER, I. and R.J. NORTH (1984)

Generation and decay of the immune response to a progressive fibrosarcoma: II. Failure to demonstrate postexcission immunity after the onset of T-cell-mediated suppression of immunity

J. Exp. Med. 159, 1312 - 1321

CONRAD, F., D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER, E. BODNER und H. WACHTER (1984)

Neopterin als Marker bei chirurgischen Tumorpatienten
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie,
Bd. 365, 907

CRAINE, J.E., E.S. HALL and S. KAUFMAN (1972)

The isolation and characterization of dihydropteridine reductase from sheep liver

J. Biol. Chem. 247, 6082-6091

CURTIUS, H.C., A. NIEDERWIESER, M. VISCONTINI, A. OTTEN, J. SCHAUB, S. SCHEIBENREITER and H. SCHMIDT (1979)

Atypical phenylketonuria due to tetrahydrobiopterin deficiency. Diagnosis and treatment with tetrahydrobiopterin, dihydrobiopterin and sepiapterin

Clin. Chim. Acta 93, 251-262

CURTIUS, H.C., H. MÜLDNER and A. NIEDERWIESER (1982)

Tetrahydrobiopterin: Efficacy in endogenous depression and Parkinson's disease

J. Neural, Transm. 55, 301 - 308

DEWEY, V.C. and G.W. KIDDER (1971)

Assay of unconjugated pteridines

In: Methods in Enzymology, Vol 18B

(Eds.: D.B. McCormick and L.D. Wright)

Academic, New York/London, 618-624

DIAGNOSTICA DIALOG (1986)

Interview mit Professor H. Wisser

2/86, 18-20

DUCH, D.S., C.-L. LEE, M. EDELSTEIN and C.A. NICHOL (1983)
 Biosynthesis of tetrahydrobiopterin in the presence of
 dihydrofolate reductase inhibitors
 Mol. Pharmacol. 24, 103 - 108

DUCH, D.S., S.W. BOWERS, J.H. WOOLF and C.A. NICHOL (1984)
 Biopterin cofactor biosynthesis: GTP-cyclohydrolase,
 neopterin and biopterin in tissues and body fluids of
 mammalian species
 Life Sciences, 35, 1895-1901

DUSTMANN, J.H. (1971)

Pteridine bei der Honigbiene *Apis mellifica* - Isolierung
 neuer Lumazine

Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 352, 1599-1600

DVORAK, H.F., A.M. DVORAK, E.J. MANSEAU, L. WIBERG and W.H.
 CHURCHILL (1979)

Fibrin gel investment associated with line 1 and line 10
 solid tumor growth, angiogenesis, and fibroplasia in guinea
 pigs. Role of cellular immunity, myofibroblasts,
 microvascular damage, and infarction in line 1 tumor
 regression

J. Natl. Cancer Inst. 62, 1459 - 1472

EDWARDS, P. (1987)

3 agents on tetrahydrobiopterin metabolism in the rat, l-
 dopa, phenelzine and starvation
 in Druck

- FARRAR, J.J., W.R. BENJAMIN, M.L. HILFIKER, M. HOWARD, W.L.
 FARRAR and J. FULLER-FARRAR (1982)
 The biochemistry, biology, and role of interleukin 2 in the
 induction of cytotoxic T cell and antibodyforming B cell
 responses
 Immunol. Rev. 63, 129 - 166
- FINK, M., U. JEHN, W. WILMANN, H. ROKKOS and I. ZIEGLER (1983)
 Neopterin in plasma and urine and biopterin in blood
 fractions after bone marrow transplantations
 In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 2
 (Eds.: H.C. Curtius, W. Pfeleiderer and H. Wachter)
 Walter de Gruyter, Berlin/New York, 223 - 234
- FINK M., V. NÜSSLER, K. DEMTRÖDER, E. HÖNIGES and M. GOLDBERG
 (1987)
 Effects of pirenzepine, aciclovir and trimethoprim on
 pterins in blood cells and plasma
 In press
- FORREST, H.S., E. GLASSMAN and H.K. MITCHELL (1956)
 Conversion of 2-amino-4-hydroxypteridine to isoxanthopterin
 in *D. Melanogaster*
 Science 124, 725-726
- FRICK, J., W. AULITZKY, D. FUCHS, A. HAUSEN, H. JOOS,
 G. REIBNEGGER and H. WACHTER (1985)
 The value of urinary neopterin as an immunological parameter
 in patients with malignant tumors of the genitourinary tract
 Urol. int. 40, 155-159

FUCHS, D., A. HAUSEN, A. HINTERHUBER, N. KATHKA, H. KRAHNKE, G. REIBNEGGER, H. RÖSSLER, T.J. SPIRA, H. WINAZZER und H. WACHTER (1984b)

Neopterin als Marker für die Paralyse des zellulären Immunsystems in AIDS-Risikogruppen
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie, Bd. 365, 912

FUCHS, D., A. HAUSEN, C. HUBER, R. MARGREITER, G. REIBNEGGER, M. SPIELBERGER und H. WACHTER (1982)

Pteridinausscheidung als Marker für alloantigen-induzierte Lymphozytenproliferation
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 363, 661-664

FUCHS, D., A. HAUSEN, C. HUBER, G. REIBNEGGER and H. WACHTER (1984a)

Urinary neopterin in the diagnosis and follow-up of neoplasia: a biochemical parameter to detect cell-mediated immune response
Tumour Biology 5, 199-209

FUCHS, D., A. HAUSEN, O. KNOSP, G. REIBNEGGER and H. WACHTER (1983)

Neopterin evaluation in patients suffering from pulmonary tuberculosis
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 2 (Eds.: H.C. Curtius, W. Pfeleiderer and H. Wachter)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 1983, 281-291

FUCHS, D., A. HAUSEN, G. REIBNEGGER, H. WACHTER, H. HETZEL, A. BICHLER and L. FUITH (1984c)

Die prognostische Bedeutung der Neopterinbestimmung bei Patientinnen mit Genitalkarzinomen
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie, Bd. 365, 920

- FUKUSHIMA, K., J. ETO, T. MAYUMI, W. RICHTER, S. GOODSON and T. SHIOTA (1975)
Biosynthesis of pterins in mammalian systems
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Ed. W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 247 - 263
- FUKUSHIMA, T. (1980)
Isolation and preparation of pterins from biological materials
In: Methods in Enzymology, Vol. 66
(Eds.: D.B. McCormic and L.D. Wright)
Academic, New York, 508-511
- FUKUSHIMA, T. and J.C. NIXON (1980)
Analysis of reduced forms of bioppterin in biological tissues and fluids
Anal. Biochem. 102, 176-188
- FUKUSHIMA, T. and T. SHIOTA (1972)
Pterins in human urine
J. Biol. Chem. 247, 4549 - 4556
- FULLER, R.C. and N.A. NUGENT (1969)
Pteridines and a function of photosynthetic reaction center
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63, 1311-1318
- FRIEDMAN, R.M. and S.N. VOGEL (1983)
Interferons with special emphasis on the immune system
Adv. Immunol. 34, 97 - 140
- GOTO, M., H.S. FORREST, L.H. DICKERMAN and J. URUSHIBARA (1965)
Isolation of a new naturally occurring pteridine from bacteria, and its relation to folic acid biosynthesis
Arch. Biochem. Biophys. 111, 8-14

- GRÜNEWALD, K., H. HUBER, D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER and H. WACHTER (1982)
Neopterin estimations in benign and malignant hematological disorders and their connections with tumor staging and remissions
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines Vol. 1 (Eds.: H. Wachter, H.C. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 173-206
- GUROFF, G., C.A. RHOADS and A. ABRAMOWITZ (1967)
A simple radioisotope assay for phenylalanine hydroxylase cofactor
Anal. Biochem. 21, 273-278
- GYURE, W.L. (1972)
A proteine precipitant useful in pteridine an purine analysis
Anal. Biochem. 50, 309-312
- HAUG, P. (1970)
Mass spectral fragmentation of trimethylsilyl derivates of 2-amino-4-hydroxypteridines
Anal. Biochem. 37, 285 - 292
- HAUSEN, A., D. FUCHS, K. GRÜNEWALD, H. HUBER, K. KÖNIG and H. WACHTER (1981)
Urinary neopterin as marker for haematological neoplasias
Clin. Chim. Acta 117, 297-305
- HAUSEN, A., D. FUCHS, K. KÖNIG and H. WACHTER (1982)
Determination of neopterin in human urine by reversed-phase high performance liquid chromatography
J. of Chromatography 227, 61-70

HAUSEN, A., D. FUCHS, H. LUTZ, G. REIBNEGGER, E.R. WERNER and H. WACHTER (1985)

Interpretation of the variable neopterin excretion in patients with different tumour types - a hypothesis

In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines Vol. 4

(Eds.: A. Wachter, C.H. Curtius and H. Wachter)

Walter de Gruyter, Berlin/New York, 487-500

HAUSEN, A., D. FUCHS, G. REIBNEGGER, H. WACHTER, D. EGG and R. GÜNTHER (1983)

Neopterin as index for activity of disease in patients with rheumatoid arthritis

In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines Vol. 2

(Eds.: H.C. Curtius, W. Pfeleiderer and H. Wachter)

Walter de Gruyter, Berlin/New York, 245-254

HALPERN, R., B.C. HALPERN, B. STEA, A. DUNLAP, K. CONKLIN, B.

CLARK, H. ASHE, L. SPERLING, J.A. HALPERN, D. HARDY and R.A. SMITH (1977)

Pterin-6-aldehyde, a cancer cell catabolite: Identification and application in diagnosis and treatment of human cancer
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 587 - 591

HOPKINS, F.G. (1889)

Chemical Society: Societies and Academies

Nature 40, 335

HOPKINS, F.G. (1891)

Pigment in yellow butterflies

Nature 45, 197-198

HOPKINS, F.G. (1895)

III. The pigments of the pieridae. A contribution to the study of excretory substances which function in ornament
Proc. Soc. London 57, 5-6

HOPKINS, F.G. (1895)

XV. The pigments of the pieridae. A contribution to the study of excretory substances which function in ornament
Phil. Trans. Soc. London, Ser. B, 186, 661-682

HUBER, C., J.R. BATCHELOR, D. FUCHS, A. HAUSEN, A. LANG, D. NIEDERWIESER, G. REIBNEGGER, P. SWETLEY, J. TROPFMAIR and H. WACHTER (1984)

Immun response-associated production of neopterin
J. Exp. Med. 160, 310-316

HUBER, C., D. FUCHS, A. HAUSEN, R. MARGREITER, G. REIBNEGGER, M. SPIELBERGER and H. WACHTER (1983)

Pteridines as a new marker to detect human T cells activated by allogenic or modified self major histocompatibility complex (MHC) determinance
J. Immunol. 130, 1047-1050

JACKSON, R.C. and G. WEBER (1975)

IMP dehydrogenase, an enzyme linked with proliferation and malignancy
Nature 256, 331 - 333

JAFFE, M. (1886)

Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins
Hoppe - Seyler's Z. Physiol. Chem. 10, 391 - 400

JIANG, P.H., F. CHANY-FOURNIER, M. SARRANGE, A. GREGOIRE and C. CHANY (1984)

Detection of an interferon antagonist, sarcolectin, in human sarcomas and muscles
Int. J. Cancer 34, 625 - 632

- KAHLSON, G. and E. ROSENGREN (1971)
Biogenesis and physiology of histamine
Edward Arnold Ltd. London
- KAUFMAN, S. (1963)
The structure of phenylalanine hydroxylation cofactor
Proc. Natl. Acad. Sci. 50, 1085-1093
- KAUFMAN, S., N.A. HOLTZMAN, S. MILSTIEN, I.J. BUTLER and A.
KRUMHOLZ (1975)
Phenylketonuria due to a deficiency of dihydropterine
reduktase
N. Engl. J. Med. 293, 785-790
- KOKOLIS, N., N. MYLONAS and I. ZIEGLER (1972)
Pteridine and riboflavin patterns during tail regeneration
in Triturus species and the effects of chloramphenicol,
isoxanthopterin and reserpine
Naturforsch. 27b, 285 - 291
- KOKOLIS, N. and I. ZIEGLER (1968)
Wiedererscheinen von Tetrahydrobiopterin in der
Regenerationsknospe von Triturus-Arten
Zeitschr. f. Naturf. 23b, 860-865
- KOKOLIS, N. and I. ZIEGLER (1977)
On the levels of phenylalanine, tyrosine and
tetrahydrobiopterin in the blood of tumor-bearing organisms
Cancer Biochim. Biophys. 2, 79 - 85

KOSTRON-KRAINZ, C., D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER and H. WACHTER (1982)

Urinary neopterin evaluation in malignant diseases in childhood

In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines Vol. 1 (Eds.: H. Wachter, H.C. Curtius and W. Pfeleiderer)

Walter de Gruyter, Berlin/New York, 157-171

KRAML, F., D. KUMMER and K. SCHMIDT (1976)

Seperation and quantitative determination of ribonucleoside and desoxyribonucleoside triphosphates in human malignant tumors

Anal. Biochem. 71, 500 - 506

KLAUS, G.G. and C.M. HAWRYLOWICZ (1984)

Cell-cycle control in lymphocyte stimulation

Immunol. today 5, 15 - 19

LAGOWSKI, J.M. and H.S. FORREST (1967)

Interaction in vitro between isoxanthopterin and DNA

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 58, 1541-1547

LEDERER, E. (1940)

Les pigments des invertébrés

Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 15, 273-306

LOVENBERG, W., E. JEQUIER and A. SJOERDSMA (1967)

Tryptophan hydroxylation. Measurement in pineal gland, brainstem and carcinoid tumor

Science 155, 217-219

MAKAROV, A.D. and L.F. STAKHOV (1972)

Chemical nature and certain features of the physiological co-factor of phosphorylation and phosphodoxin

Biophysika 17, 396-400

MILSTIEN, S. and S. KAUFMAN (1986)

The biosynthesis of tetrahydrobiopterin in rat brain
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Eds.: B.A. Cooper and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 169-181

MOMZIKOFF, A. (1973)

Identification de la riboflavine et de l' isoxanthoptérine
parmi les substances fluorescentes d' *ascidiella aspersa*
Arch. Zool. Exp. Gen. 114, 603-610

MORI, Y., J. MATSUMOTO and T. HAMA (1960)

On the properties of cyprinopourpre A2, a pterin isolated
from the skin of cyprinidae, and its relation to
ichtyopterin or 7-hydroxybiopterin
Z. Vergleich Physiol. 43, 531 - 543

NAGATSU, T., M. LEVITT and S. UDENFRIEND (1964)

Tyrosine hydroxylase (the initial step in norepinephrine
biosynthesis)
J. Biol. Chem. 239, 2910-2917

NARAHAYASHI, H., T. KONDO, T. NAGATSU, T. SUGIMOTO and S.
MATSUURA (1982)

Tetrahydrobiopterin administration for Parkinsonian symptoms
Proc. Jpn. Acad. Ser. B 58, 283 - 287

NICHOL, C.A., G.K. SMITH and D.S. DUCH (1985)

Biosynthesis and metabolism of tetrahydrobiopterin and
molybdopterin
Ann. Rev. Biochem. 54, 729-764

- NIEDERWIESER, A., H.C. CURTIUS, O. BETTONI, J. BIERI, B. SCHIRCKS, M. VISCONTINI and J. SCHAUB (1979)
Atypical phenylketonuria caused by 7,8-dihydrobiopterin synthetase deficiency
Lancet 1979/I, 131-133
- NIEDERWIESER, D., C. HUBER, A. GRATWOHL, P. BANNERT, D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER, B. SPECK and H. WACHTER (1984)
Neopterin as a new biochemical marker in the clinical monitoring of bone marrow transplant recipients
Transplantation Vol. 38, 5, 497-500
- NORMANN, S.J., M. SCHAROTT and E. SORKIN (1979)
Cancer progression and monocyte inflammatory dysfunction: Relationship to tumour excision and metastasis
Int. J. Cancer 23, 110 - 113
- ORTIZ, E., L.H. THROCKMORTON and H.G. WILLIAMS-ASHMANN (1962)
Drosopterins in the throat-fans of some Puerto Rican lizards
Nature, 196, 595-596
- PATTERSON, E.L., H.T. BROQUIST, A.M. ALBRECHT, H.M. v. SALTZA and E.L.R. STOKSTAD (1955)
A new pteridine in urine required for the growth of the protozoon *Crithidia fasciculata*
J. Amer. Chem. Soc. 77, 3167 - 3168
- PFLEGER, R.C., C. PIANTADOSI and F. SNYDER (1967)
The biocleavage of some glyceryl ethers by soluble liver enzymes in a variety of species
Biochim. Biophys. Acta 144, 633 - 648
- PFLEIDERER, W. (1964)
Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie IV
In: Angewandte Chemie
Int. Engl. Ed. 3, 113-156

PHEASANT, A.E. (1986)

Diurnal variation in urinary pterin excretion in man
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Eds.: B.A. Cooper and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 267-270

PRIOR, C., D. FUCHS, A. HAUSEN, C. HUBER, G. JUDMEIER, D.
NIEDERWIESER, G. REIBNEGGER und H. WACHTER (1984)

Die Rolle des Neopterin in der Aktivitätsbeurteilung der
Colitis ulcerosa
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie,
Bd. 365, 940

PURRMANN, R. (1940)

Über die Flügelpigmente der Schmetterlinge VII
Liebigs Ann. Chem. 544, 182-190

PURRMANN, R. (1940)

Die Synthese des Xanthopterins
Liebigs Ann. Chem. 546, 98-102

PURRMANN, R. (1941)

Konstitution und Synthese des sogenannten
Anhydroleukopterins
Liebigs Ann. Chem. 548, 284-292

RAO, G.N. and E. COTLIER (1985)

Biosynthesis of neopterin, sepiapterin and biopterin in rat
and human ocular tissues
Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 26, 768-770

RAO, G.N., S. TREHAN and J.M. NORONHA (1981)

Elevated urinary levels of 6-hydroxymethylpterin during malignancy and liver regeneration: a simple, noninvasive test for cancer detection
Cancer 48, 1656 - 1663

REMBOLD, H. (1970)

Catabolism of unconjugated pteridines
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Eds.: Iwai, Goto, Akino, Iwanami)
Int. Acad. Printing, Tokyo, 163 - 178

REMBOLD, H. and W. GUTENSOHN (1968)

6-hydroxylation of the pteridine ring by xanthine oxidase
Biochim. Biophys. Res. Commun. 31, 837 - 841

REMBOLD, H. and G. HEINZ (1971)

L-threo-neopterin, the major pterin in Escherichia coli B
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 352, 1271 - 1272

REMBOLD, H., H. METZGER and W. GUTENSOHN (1971)

Catabolism of pteridine cofactors. III. On the introduction of an oxygen function into position 6 of the pteridine ring
Biochim. Biophys. Acta 230, 117 - 126

REMBOLD, H., H. METZGER, P. SUDERSHAN and W. GUTENSOHN (1969)

Catabolism of pteridine cofactors. I. Properties and metabolism in the rat liver homogenates of tetrahydrobiopterin and tetrahydroneopterin
Biochim. Biophys. Acta 184, 386 - 396

REMBOLD, H. and F. SIMMERBACH (1969)

Catabolism of pteridine cofactors. II. A specific pterin deaminase in rat liver
Biochim. Biophys. Acta 184, 589 - 596

ROBB, R.J. (1984)

Interleukin 2: the molecule and its function
Immunol. today 5, 203 - 209

ROKOS, H., G. BIENHAUS and R. KUNZE (1985)

Neopterin in serum of mammals?
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 4.
(Eds.: H.Wachter, H.C. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 313 - 318

ROKOS, H. and K. ROKOS (1983)

A radioimmunoassay for determination of D-erythro-neopterin
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Ed.: J.A. Blair)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 815 - 819

ROKOS, H., K. ROKOS, H. FRISIUS and H.J. KIRSTÄDTER (1980)

Altered urinary excretion of pteridines in neoplastic
disease. Determination of biopterin, neopterin, xanthopterin
and pterin
Clin. Chim. Acta 105, 275 - 286

ROKOS, K., H. ROKOS, H. FRISIUS and M. HÜFNER (1983)

Pteridines in cancer and other diseases
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Ed.: J.A. Blair)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 153 - 157

SACHS, L. (1984)

Angewandte Statistik
6. Auflage, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York

SANCHEZ-URRETIA, L., C.E. PIERCE and O. GREENGARD (1978)

Dihydropteridine reductase activity of adult, fetal and
neoplastic tissues
Enzyme 23, 346-352

SCHMIDT, V.G.H., A. HOTARI und H. RADTKE (1980)

Quantitative Untersuchungen zum Riboflavin- und
Isoxanthopteringehalt von Insekten, insbesondere Waldameisen
Zool. Jb. Physiol. 84, 425-450

SCHMUTZHARD, E., D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER und H. WACHTER
(1984a)

Neopterinausscheidung im Harn von Leprapatienten
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie,
Bd. 365, 946

SCHMUTZHARD, E., D. FUCHS, A. HAUSEN, H. LUTZ, G. REIBNEGGER und
H. WACHTER (1984b)

Neopterinausscheidung bei Malaria
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie,
Bd. 365, 946

SCHÖPF, C. und E. BECKER (1936)

Über neue Pteridine
Liebigs Ann. Chem. 524, 49-123

SCHÖPF, C. und R. REICHERT (1941)

Zur Kenntnis des Leukopterins
Liebigs Ann. Chem. 548, 82-94

SCHÖPF, C. und H. WIELAND (1926)

Über das Leukopterin, das weiße Flügelpigment der
Kohlweißlinge
Ber. Deut. Chem. Ges. 59, 2067-2072

- SHINTAKU, H., K. YAMATO, Y. SAWADA, Y. MIGATA, G. ISSHIKI, Y.
HASE, T. TSURUHARA, T.OURA, M. TANAKA and S. NAKAMURA (1985)
Urinary neopterin in children with malignant neoplasm
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 4
(Eds.: H.Wachter, H.C. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 501 - 513
- SMITH, G.K., D.S. DUCH and C.A. NICHOL (1986)
The biosynthesis of tetrahydrobiopterin in the bovine
adrenal medulla
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Eds.: B.A. Cooper and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 151-168
- SNYDER, D.S., D.I. BELLER and E.R. UNANUE (1982)
Prostaglandins modulate macrophage Ia expression
Nature 299, 163 - 165
- SNYDERMAN, R., H.F. SEIGLER and L. MEADOWS (1977)
Abnormalities of monocyte chemotaxis in patients with
melanoma: Effects of immunotherapy and tumor removal
J. Natl. Cancer Inst. 58, 37 - 41
- SNYDERMAN, R., L. MEADOWS, W. HOLDER and S. WELLS (1978)
Abnormal monocyte chemotaxis in patients with breast cancer:
Evidence for a tumor-mediated effect
J. Natl. Cancer Inst. 60 737 - 740
- STEA, B., P.S. BACKLUND jr., P.B. BERKEY, A.K. CHO, B.C. HALPERN,
R.M. HALPERN and R.A. SMITH (1978)
Folate and pterin metabolism by cancer cells in culture
Cancer Research 38, 2378-2384

- STEA, B., R.M. HALPERN, B.C. HALPERN and R.A. SMITH (1980)
Quantitative determination of pterins in biological fluids
by high performance liquid chromatography
J. of Chromatography 188, 363-375
- STEA, B., R.M. HALPERN, B.C. HALPERN and R.A. SMITH (1981)
Urinary excretion levels of unconjugated pterins in cancer
patients and normal individuals
Clin. Chim. Acta 113, 231-242
- TIEMEYER, D. (1986)
Zur weiteren Charakterisierung einer aviären
Dysgammaglobulinämie
Diss. München, 193
- TIETZ, A., M. LINDBERG and E.P. KENNEDY (1964)
A new pteridine requiring enzyme system for the oxidation of
glyceryl-ethers
J. Biol. Chem. 239, 4081 - 4090
- TREHAN, S., K.N. RAO, P.A. SHETTY and J.M. NORONHA (1982)
Urinary 6-hydroxymethylpterin levels accurately monitor
response to chemotherapy in acute myeloblastic leukemia
Cancer 50, 114 - 117
- TROPFMAIR, J., A. LANG, C. HUBER, G. SCHOEDON, A. NIEDERWIESER
and G. ADOLF (1985)
Intracellular changes in pterin releasing peripheral blood
mononuclear cells after stimulation with interferon-gamma
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines Vol. 4
(Eds.: H.Wachter, H.C. Curtius and W. Pfleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 363-368

TSUJITA, M. and S. SAKURAI (1963)

The association of a specific protein with yellow pigments
(dihydropterin) in silkworm, *bombyx mori*
Japan J. Genet. 38, 97-105

UNANUE, E.R., D.I. BELLER, C.Y. LU and P.M. ALLEN (1984)

Antigen presentation: Comments on its regulation and
mechanism
J. Immunol. 132, 1 - 5

VISCONTINI, M. und R. BÜHLER-MOOR (1968)

Isolierung von L-Monapterin aus *Pseudomonas roseus*
fluorescens
Helv. Chim. Acta 51, 1548-1554

WACHTER, H., D. FUCHS, A. HAUSEN and G. REIBNEGGER (1982)

Importance of pteridines for regulation of growth
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines Vol. 1
(Eds.: H. Wachter, H.C. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 277-281

WACHTER, H., K. GRASSMAYR and A. HAUSEN (1979)

Enhanced urinary excretion of 7,8-dihydro-6-hydroxylumazine
by mice bearing the Ehrlich-ascites tumor
Cancer Lett. 6, 61-66

WACHTER, H., A. HAUSEN und K. GRASSMAYR (1979)

Erhöhte Ausscheidung von Neopterin in Harn von Patienten mit
malignen Tumoren und Viruserkrankungen
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 360, 1957-1960

WACHTER, H., A. HAUSEN, E. REIDER and M. SCHWEIGER (1980)

Pteridine excretion from cells as indicator of cell
proliferation
Naturwissenschaften 67, 610-611
Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York

- WATSON, B.M., P. SCHLESINGER and R.G.H. COTTON (1978)
 Dihydroxanthopterinuria in phenylketonuria and lethal
 hyperphenylalaninemia patients
 Clin. Chim. Acta 78, 417-423
- WEINBERG, D.S. and E.R. UNANUE (1981)
 Antigen-presenting function of alveolar macrophages: Uptake
 and presentation of listeria monocytogens
 J. Immunol. 126, 794 - 799
- WIELAND, H., H. METZGER, C. SCHÖPF und M. BÜLOW (1933)
 Über Leukopterin, das Flügelpigment der Kohlweißlinge
 (Pieriden). II
 Liebigs Ann. Chem. 507, 226-265
- WIELAND, H., R. PURRMANN (1939)
 Über die Flügelpigmente der Schmetterlinge. IV
 Liebigs Ann. Chem. 539, 179-187
- WIELAND, H. und C. SCHÖPF (1925)
 Über den gelben Flügelfarbstoff des Citronenfalters
 (Gonepteryx rhamni)
 Ber. Dent. Chem. Ges. 58, 2178 - 2183
- WILLIAMS, J.C., H. KIZAKI, G. WEBER and H.P. MORRIS (1978)
 Increases CTP synthetase activity in cancer cells
 Nature 271, 71 - 73
- YOSHIDA, T. and M. AKINO (1980)
 Occurrence of unconjugated pterins in a higher plant,
 stizolobium hassjoo
 Experientia 36, 639-640

- ZEITLER, H.-J. and B. ANDONDONSKAJA-RENN (1985)
Pteridine levels in patients with AIDS (acquired immunodeficiency syndrome) and with Kaposi's sarkoma
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines Vol. 4
(Eds.: H. Wachter, H.C. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 593-605
- ZIEGLER, I. (1960)
Tetrahydrobiopterin-Derivat als lichtempfindliche Verbindung bei Amphibien und Insekten
Z. Naturf. 15b, 460-465
- ZIEGLER, I. (1965)
Pteridine als Wirkstoffe und Pigmente
Ergeb. Physiol. Biol. Chem. exp. Pharmacol. 56, 1-66
- ZIEGLER, I. (1986)
Production of pteridines by T cells and macrophages-modulator function in interleukin 2 signal transmission
In: Lymphokines
(Ed.: E. Pick)
Academic Press, New York (in press)
- ZIEGLER, I. (1985)
Pteridine formation during lectin-induced lymphocyte activation
J. Cell. Biochem. 28, 197-206
- ZIEGLER, I., M. FINK and W. WILMANN (1982a)
Biopterin level in peripheral blood cells as a marker for hemopoietic cell proliferation during leukemia and polycythemia vera
Blut 44, 231-240

ZIEGLER, I., K. HAMM and J. BERNDT (1983)

Participation of pterins in the control of lymphocyte stimulation and lymphoblast proliferation

Cancer Res. 43, 5356-5359

ZIEGLER, I., H.J. KOLB, U. BODENBERGER and W. WILMANN (1982b)

Biopterin level in peripheral blood cells as a marker for hemopoietic cell proliferation during autologous bone marrow transplantation in beagle dogs

Blut 44, 261-270

ZIEGLER, I. and H. ROKOS (1986)

Pteridines and the immune response

EOS Rivista di Immunologia ed Immunofarmacologia (in press)

WORTE DES DANKES

Für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes danke ich Herrn Prof. Dr. M. Merckenschlager und Herrn Prof. Dr. H. Zucker.

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. M. Merckenschlager möchte ich ganz herzlich für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer. nat. M. Goldberg für die Einführung in das Arbeitsgebiet, seine hervorragende Betreuung und seine wertvollen Ratschläge.

Ferner bedanke ich mich bei:

- der Chirurgischen Klinik, insbesondere bei Frau Prof. Dr. U. Matis und ihren Mitarbeitern
- der II. Medizinischen Klinik, insbesondere bei Herrn Prof. Dr. W. Kraft und seinen Mitarbeitern in der Infektionsabteilung
- der Gynäkologischen Klinik, insbesondere bei Herrn Prof. Dr. M. Rüsse
- dem Klinikum Rechts der Isar, insbesondere bei Herrn PD. Dr. Dr. habil. W. Erhardt
- Frau Ursel Seeliger und meinen Mitdoktoranden H.-P. Bast und J. Naumann für die Unterstützung bei der technischen Durchführung

Die Anfertigung dieser Arbeit wurde durch ein Stipendium der Hanns-Seidel-Stiftung unterstützt, wofür ich ebenfalls meinen Dank ausspreche.

LEBENS LAUF

Franz Ludwig Gassner	geb. am 29. Okt. 1959 in Eggenfelden
Eltern	Franz Gassner, Schneider Maria Gassner, geb. Derzmann
Schulbildung	1966 bis 1970 Knabenvolksschule Eggenfelden 1970 bis 1979 am Karl-von-Closen- Gymnasium Eggenfelden-Gern
Abitur	27. Juni 1979
Grundwehrdienst	1979 bis 1980 in Feldkirchen
Universitätsstudium	1980 bis 1985 an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München mit Staatsexamen im November 1985
Approbation	20. Januar 1986 seit November 1985 Anfertigung der vorliegenden Dissertation
Stipendium	seit April 1986 Stipendiat der Hanns- Seidel-Stiftung
Berufstätigkeit	von September bis Dezember 1986 teilbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungs- physiologie der Tierärztlichen Fakultät München

